

3m7

Zur aeroben Abwasser- und Schlammbehandlung bei meso- und thermophilen Temperaturen

Temperaturabhängigkeit der Abbauleistung
und Zusammensetzung der thermophilen Mikroflora

Wilhelm Demharter



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554610_0004

ZUR AEROBEN ABWASSER- UND SCHLAMMBEHANDLUNG
BEI MESO- UND THERMOPHILEN TEMPERATUREN

TEMPERATURABHÄNGIGKEIT DER ABBAULEISTUNG
UND
ZUSAMMENSETZUNG DER THERMOPHILEN MIKROFLORA

Dissertation
der Fakultät für Biologie
der Ludwig-Maximilians-Universität
München

vorgelegt
von
Wilhelm Demharter
aus
Augsburg

Juni 1986

1. Berichterstatter: Prof.Dr. O. Kandler

2. Berichterstatter: Dr.rer.nat.habil. R. Hensel

Tag der mündlichen Prüfung: 6. Oktober 1986

In Dankbarkeit
meinen Eltern gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINFÜHRUNG	1
2. MATERIAL UND METHODEN	7
2.1. Aufbau der Versuchsanlage	7
2.2. Substrate	8
2.3. Versuchsdurchführung	9
2.4. Abwassertechnische Analytik	10
2.4.1. Trockensubstanz und organische Trockensubstanz	10
2.4.2. Schlammgehalt	11
2.4.3. Chemischer Sauerstoffbedarf	12
2.4.4. Biochemischer Sauerstoffbedarf	13
2.4.5. Total Oxygen Demand und Total Organic Carbon	14
2.4.6. Kalium	14
2.4.7. Stickstoff	14
2.4.7.1. $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ -Stickstoff	14
2.4.7.2. Kjeldahl-Stickstoff	15
2.4.7.3. Organisch gebundener Stickstoff	15
2.4.7.4. NO_3^- -Stickstoff	15
2.4.8. Orthophosphat	15
2.4.9. Protein	15
2.4.10. Fett	16
2.4.11. Betain	17
2.4.12. Bräunungsprodukte	17
2.4.13. Entwässerungsverhalten	18
2.4.14. Lysegeschwindigkeit von Bakterienzellen	19
2.5. Mikrobiologische Analytik	20
2.5.1. Keimzahlbestimmungen	20
2.5.1.1. Gesamtkeimzahl, Zahl physiologisch aktiver Keime	20
2.5.1.2. Lebendkeimzahl	22
2.5.1.3. Keimzahlbestimmung mit Hilfe der Immunfluoreszenz	22

2.5.2.	Physiologische Testreaktionen	26
2.5.2.1.	Katalase	26
2.5.2.2.	Oxidase	26
2.5.2.3.	Aerobes/anaerobes Wachstum auf/ Säure- bildung aus verschiedenen Zuckern	27
2.5.2.4.	Hydrolyse von Stärke und Gelatine	27
2.5.2.5.	Hydrolyse von Casein	27
2.5.2.6.	Hydrolyse von Cellulose und CM-Cellulose	28
2.5.2.7.	Nitratreduktion	28
2.5.2.8.	NH ₃ -Bildung aus Pepton	28
2.5.3.	Elektronenmikroskopie	28
2.5.4.	Biochemische Analysen	28
2.5.4.1.	Zellwandanalysen	28
2.5.4.2.	Isoprenoid-Chinon-Typ und Fettsäure- zusammensetzung	29
2.5.4.3.	Pigmentanalyse	29
2.5.5.	Molekulargenetische Analysen	29
2.5.5.1.	Basenzusammensetzung der DNS	30
2.5.5.2.	DNS/DNS-Homologie	30
3.	UNTERSUCHUNGEN ZUR TEMPERATURABHÄNGIGKEIT DER ABBAULEISTUNG AEROBER ABWASSER- UND SCHLAMM- BEHANDLUNGSANLAGEN	31
3.1.	EINLEITUNG	32
3.2.	ERGEBNISSE	34
3.2.1.	Behandlung von Abwasser einer Hefefabrik	34
3.2.1.1.	Abbau der oTS- und CSB-Belastung	35
3.2.1.2.	BSB ₅ -Abbau	48
3.2.1.3.	Abbau organischer Stickstoffverbindungen	50
3.2.1.4.	Abbau spezifischer Inhaltsstoffe	52
3.2.1.5.	Festlegung organischer Substanz im Belebtschlamm	56
3.2.1.6.	Wachstumsertrag und Mineralisierungsleistung	60
3.2.1.7.	Absetzverhalten des Belebtschlammes	64
3.2.1.8.	pH-Wert	66
3.2.2.	Behandlung kommunaler Klärschlämme	67
3.2.2.1.	Sauerstoffzehrung halbkontinuierlich be- triebener Reaktoren	68

3.2.2.2.	Temperaturabhängigkeit der Mineralisierung von Primärschlamm	70
3.2.2.3.	Mineralisierung von Sekundärschlamm bei 30°C und 60°C	73
3.2.2.4.	pH-Wert	79
3.2.2.5.	Stabilisierungsgrad	81
3.2.2.6.	Absetz- und Entwässerungsverhalten, Geruch und Lagerfähigkeit	86
3.2.2.7.	Aufschluß von Bakterienzellen durch thermophile Schlammbehandlung	89
3.2.2.8.	Klärschlammstabilisierung in einer 2-stufigen Laboranlage	81
3.2.3.	Untersuchungen an Praxisanlagen zur aerob-thermophilen Schlammstabilisierung	95
3.2.3.1.	Betriebs- und Substratbedingungen	96
3.2.3.2.	Abbauleistung	98
3.3.	DISKUSSION	102
3.3.1.	Laborfermenter als Modellanlagen zur aerob-thermophilen Behandlung organisch hochbelasteter Abwässer und Abwasserschlämme	102
3.3.2.	Temperaturabhängigkeit der Leistungsfähigkeit aerober Abwasser- und Schlammbehandlung	104
3.3.3.	Perspektiven	109
4.	UNTERSUCHUNGEN ZUR MIKROFLORA AEROB-THERMOPHILER ABWASSER- UND SCHLAMMBEHANDLUNGSANLAGEN	111
4.1.	EINLEITUNG	112
4.2.	ERGEBNISSE	114
4.2.1.	Mikroflora thermophil betriebener Laboranlagen	114
4.2.1.1.	Gesamtkeimzahl, Zahl physiologisch aktiver Keime, Lebendkeimzahl	115
4.2.1.2.	Charakterisierung und taxonomische Zuordnung von Isolaten aus der Hefeabwasseranlage	118
4.2.1.3.	Charakterisierung und taxonomische Zuordnung von Isolaten aus der Klärschlammanlage	129
4.2.1.4.	Keimzahlbestimmung in den Laboranlagen mit Hilfe der Immunfluoreszenzmethode	156

4.2.2.	Thermophile Mikroflora von Praxisanlagen zur aerob-thermophilen Schlammstabilisierung	161
4.2.2.1.	Bestimmung der Gesamtkeimzahl, physiologisch aktiven Flora und Lebendkeimzahl	162
4.2.2.2.	Immunologische Identifizierung und Keimzahl- bestimmung einzelner Florenvertreter	163
4.3.	DISKUSSION	165
5.	ZUSAMMENFASSUNG	170
5.1.	Abwassertechnologische Aspekte	170
5.2.	Mikrobiologische Aspekte	173
6.	LITERATURVERZEICHNIS	176

ABKÜRZUNGEN

CSB	Chemischer Sauerstoffbedarf
BSB ₅	Biochemischer Sauerstoffbedarf in 5 Tagen
TS	Trockensubstanz
oTS	organische Trockensubstanz
TOD	Total Oxygen Demand
TOC	Total Organic Carbon
T	Temperatur
t _R	Retentionszeit
B _R	Raumbelastung
TS _R	Schlammgehalt
ÜS _R	Schlammproduktion
B _{TS}	Schlammbelastung
DSM	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen
LKZ	Lebendkeimzahl
GKZ	Gesamtkeimzahl
AKZ	Zahl physiologisch aktiver Keime
T _m	Schmelztemperatur der DNS
n	Probenzahl
σ	Standardabweichung

1. EINFÜHRUNG

Ziel jeder Art von Abwasserbehandlung muß es sein, möglichst viele der umweltbelastenden Bestandteile von Schmutzwasser in natürliche Stoffkreisläufe zurückzuführen. In einem dichtbesiedelten Industrieland wie der Bundesrepublik Deutschland ist dieses Ziel nicht mehr ohne den Einsatz entsprechend leistungsfähiger Technologien zu erreichen, da die zur Verfügung stehenden Land- und Wasserflächen nicht ausreichen, um die Abwässer auf natürliche Weise zu reinigen.

Welche Bedeutung die zeitgemäße Abwasserreinigung nicht nur unter technologischen, sondern auch unter volkswirtschaftlichen Aspekten inzwischen erreicht hat, läßt sich schon daran erkennen, daß im Zeitraum 1970 - 1982 allein in Neubau, Erweiterung und Erneuerung kommunaler Kanalsysteme und Kläranlagen über 44 Mrd. DM investiert wurden (Gilles, 1983). Aufwendungen im Bereich industrieller Abwasserreinigungsanlagen sind in diesem Betrag noch gar nicht berücksichtigt.

Innerhalb der gesamten Abwassertechnologie gewinnen heute zwei Aufgabenstellungen aus dem Bereich biologischer Reinigungsverfahren zunehmend an Bedeutung:

- die möglichst effiziente Klärung organisch hochbelasteter Primärabwässer
- die möglichst effiziente Stabilisierung von Klärschlämmen

Organisch hochbelastete Primärabwässer fallen in zunehmendem Maß beispielsweise in verschiedenen Produktionsbereichen der Landwirtschaft und der Lebensmittelindustrie an (Massentierhaltung, Schlachthöfe, Molkereien, Konservenindustrie, etc., vgl. Loll, 1974; Kandler, 1976). Die Belastung dieser Abwässer (BSB_5 : 10000-100000 mg O_2/l) übersteigt bei weitem die technische und wirtschaftliche Leistungsfähigkeit herkömmlicher Reinigungsverfahren, die zur Behandlung kommunaler

Abwässer (BSB_5 : 200-300 mg O_2/l) eingesetzt werden. Zudem erfordert unter Umständen die Gebührenbelastung, die das Abwasserabgabengesetz bei Einleitung starkverschmutzter Abwässer in das Kanalnetz vorsieht, eine weitgehende Reduktion der Schmutzfracht noch im Betrieb des Abwasserproduzenten.

Klärschlämme fallen als Endprodukt der mechanischen, biologischen und chemischen Abwasserreinigung als sogenannte Sekundärabwässer an. Entsprechend dem steigenden Abwasseraufkommen in den Kläranlagen bei gleichzeitiger Verbesserung deren qualitativer Reinigungsleistung entstehen auch steigende Menge von Klärschlamm im Reinigungsprozess dieser Klärwerke. So beträgt derzeit der Klärschlammanfall allein in den kommunalen Klärwerken der Bundesrepublik Deutschland über 50 Mio. m^3 pro Jahr (Möller und Schenkel, 1980). Sowohl die weitere Verwertung dieser hochbelasteten Abwasserschlämme beispielweise als Dünger als auch ihre endgültige Beseitigung auf Deponien setzt in der Regel eine sogenannte Stabilisierung - das heißt die Reduktion der organischen Substanz bis auf einen möglichst kleinen und inerten Rest - voraus, um geruchsintensive Fäulnisprozesse bei der nachträglichen Lagerung auszuschließen.

Als biologische Stabilisierungsverfahren kommen sowohl aerobe als auch anaerobe Verfahren in Betracht. Wie alle biochemischen Reaktionen gehorchen auch diese Prozesse in gewissen Grenzen dem Van't Hoff'schen Gesetz, wonach eine Temperaturerhöhung um 10°C die Geschwindigkeit einer Reaktion etwa verdoppelt. Eine Steigerung der Prozeßtemperatur läßt demnach auch eine entsprechende Leistungssteigerung eines Stabilisierungsverfahrens erwarten. Die praktische Bedeutung dieses Zusammenhanges ist am Beispiel der Klärschlammstabilisierung in Abb. 1 dargestellt. Höhere Umsatzraten bei erhöhter Prozeßtemperatur erlauben demnach eine deutliche Verkürzung der Reaktionszeiten. Da eine Verringerung des Reaktorvolumens die Investitions-

kosten einer Anlage senkt, arbeiten Stabilisierungsverfahren bei mesophilen Temperaturen wesentlich wirtschaftlicher als bei psychrophilen Temperaturen.

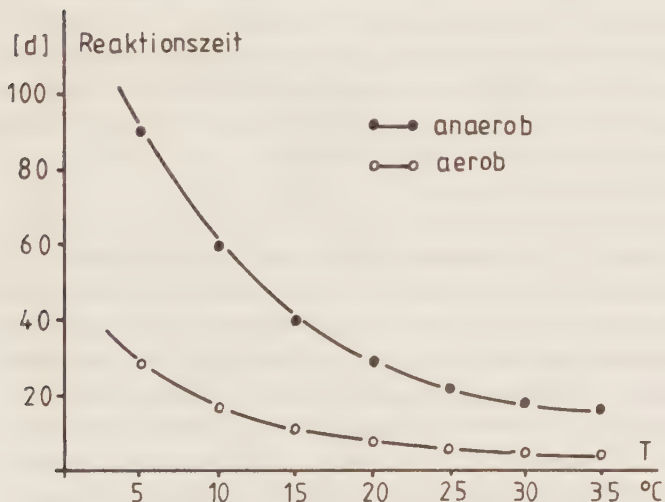


Abb. 1: Reaktionszeiten der aeroben und anaeroben Klärschlammstabilisierung in Abhängigkeit von der Prozesstemperatur (nach Müller-Neuhaus, 1971)

Abb. 1 zeigt darüber hinaus, daß aerobe Stabilisierungsverfahren im gesamten Temperaturbereich kürzere Reaktionszeiten ermöglichen als anaerobe Verfahren.

Ökonomisch vorteilhaft wirkt sich jedoch im Fall der anaeroben Faulung aus, daß hierbei ein energiereiches Endprodukt in Form von Faulgas entsteht (Methangehalt etwa 60-70%), das zur Faulraumheizung eingesetzt werden kann. Dagegen waren aerobe Verfahren für eine leistungssteigernde Erwärmung der Reaktoren bislang grundsätzlich auf den Einsatz

von Fremdenergie angewiesen. Deshalb mußte Müller-Neuhaus (1971) folgerichtig zu dem Schluß kommen, daß mesophile aerobe Verfahren zur Schlammstabilisierung unter energie-wirtschaftlichen Gesichtspunkten zum damaligen Zeitpunkt nicht konkurrenzfähig waren.

Innerhalb der sogenannten getrennten Stabilisierungsverfahren, wie sie heute überwiegend eingesetzt werden, wurde die aerobe Stabilisierung erst im Verlauf der letzten 15 Jahren konkurrenzfähig, als es gelang, die unter aeroben Bedingungen freiwerdende Reaktionswärme zur Selbsterwärmung des behandelten Substrates zu nutzen.

Zur Abschätzung der bei der mikrobiellen Oxidation organischer Substanz freiwerdenden Reaktionsenergie können die von Cooney et al. (1969) an Reinkulturen durchgeführten Untersuchungen herangezogen werden. Die Autoren ermittelten eine praktisch von der Art des veratmeten Substrates unabhängige Energiefreisetzung von 0,46 kJ (0,11 kcal) pro mmol O_2 -Verbrauch. Unter Verwendung des in der Abwassertechnologie gebräuchlichen Parameters "Chemischer Sauerstoffbedarf (CSB)" ergibt sich daraus bei einer CSB-Reduktion von 1 g O_2 eine Energiefreisetzung von 14,7 kJ (3,4 kcal).

Das Prinzip der Selbsterwärmung bei der mikrobiellen Oxidation nährstoffreicher Substrate ist zwar seit langem bekannt (z.B. Selbstentzündung von Heu) und wird bei der Kompostierung fester organischer Abfälle seit längerem technisch genutzt (z.B. Gartenabfälle, Müll, etc.), es konnte jedoch erst ab etwa 1970 auch für die Behandlung flüssiger Substrate angewandt werden.

Den praktischen Beweis, daß während der aeroben Behandlung flüssiger Substrate durch Selbsterwärmung hoch-mesophile bis thermophile Temperaturen erreicht und aufrechterhalten werden können, erbrachten Fuchs (1970), Rüprich (1970), Pöpel (1970, 1971), Rincke (1971), Pöpel und Ohnmacht (1972),

Loll (1974). Bei diesen Untersuchungen kamen neuartige Belüftungsaggregate (sogenannte Umwälz- oder Wendelbelüfter; Fa. Fuchs, Mayen) zum Einsatz, die im Gegensatz zu herkömmlichen Belüftungssystemen einen sehr intensiven, feinblasigen Gaseintrag bei geringer Oberflächenturbulenz ermöglichen. Dadurch werden im Zusammenspiel mit baulichen Maßnahmen an den Reaktoren (geschlossene, wärmeisolierte Behälter) Wärmeverluste des Systems so weit reduziert, daß die Freisetzung der endogenen Substratenergie durch den aeroben mikrobiellen Stoffwechsel zu einem Temperaturanstieg führen kann. Untersuchungen von Jewell und Kabrick (1980) zur aerob-thermophilen Schlammstabilisierung im technischen Maßstab zeigen, daß etwa 70% der oben angegebenen Reaktionswärme von 14,7 kJ (3,4 kcal) pro g CSB-Abbau für Selbsterhitzungsvorgänge zur Verfügung stehen. Die durch eine CSB-Reduktion von beispielsweise 10 g O_2 /l freigesetzte Wärmemenge reicht also aus, um die Substrattemperatur um rund 25°C über die Ausgangstemperatur anzuheben. Umgekehrt läßt sich an Hand dieser Beziehung abschätzen, welche Substratkonzentrationen grundsätzlich notwendig sind, um durch biogene Erwärmung überhaupt thermophile Temperaturbereiche von 50-60°C erreichen zu können.

Neben dem Aspekt der Prozeßbeschleunigung durch erhöhte Temperaturen erscheint die aerob-thermophile Prozeßführung gerade bei der Klärschlammstabilisierung unter dem Gesichtspunkt der Seuchenhygiene interessant. Wie Untersuchungen von Strauch und Wassen (1976), Strauch (1980), Rüprich und Strauch (1984) zeigen, ist bei der aerob-thermophilen Klärschlammstabilisierung bei Einhaltung bestimmter Betriebsparameter (Temperatur, pH-Wert, Mindestaufenthaltszeit) eine sichere Entseuchung, das heißt eine Abtötung von Parasiten und pathogenen Mikroorganismen gewährleistet. Als Verfahren zur "simultanen Stabilisierung und Entseuchung" von Klärschlamm dürften aerob-thermophile Prozesse also vor allem in den Gebieten an Bedeutung ge-

winnen, in denen eine landwirtschaftliche Verwertung der Schlämme möglich ist. Dies gilt um so mehr, wenn entsprechend der derzeit gültigen Klärschlammverordnung (Bundesgesetzblatt, 25.6.1982) ab 1.1.1987 die "Ausbringung von seuchenhygienisch bedenklichem Klärschlamm auf Grünland und Futteranbauflächen ganzjährig verboten" wird.

Derzeit werden in Deutschland bereits in mehreren Klärwerken die anfallenden Klärschlämme einer aerob-thermophilen Stabilisierung unterzogen. Über Praxiserfahrungen berichten Breitenbücher (1982 u.1983) und Fuchs (1980, 1983, 1984). Einen Überblick über den derzeitigen "Stand der Technik" der aerob-thermophilen Schlammstabilisierung gibt Loll (1984).

Ein direkter Leistungsvergleich zwischen mesophilen und thermophilen Prozessen, wie er für die anaerobe Faulung inzwischen vorliegt (Temper, 1983), steht für die aerobe Abwasser- und Schlammbehandlung immer noch aus. Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit wird deshalb im Labormaßstab unter definierten Bedingungen die Temperaturabhängigkeit der Abbauleistung aerober Anlagen im mesophilen bis thermophilen Bereich untersucht. Die steady-state-Bedingungen, unter denen die Anlagen betrieben werden, erlauben zudem die Analyse der thermophilen Mikroflora dieser Prozesse unbeeinflußt von Schwankungen der Substratzusammensetzung, Temperatur und Belastung der Anlagen. Über diese Untersuchungen wird im zweiten Teil der Arbeit berichtet. Beide Themenschwerpunkte werden an zwei praxisrelevanten Substraten bearbeitet: Abwasser aus der Hefeproduktion als Beispiel für ein organisch hochbelastetes Primärabwasser, sowie Klärschlamm als organisch hochbelastetes Sekundärabwasser. Die Laborversuche werden durch Untersuchungen an mehreren Praxisanlagen zur aerob-thermophilen Schlammstabilisierung ergänzt, um die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf Praxisbedingungen zu überprüfen.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Aufbau der Versuchsanlage

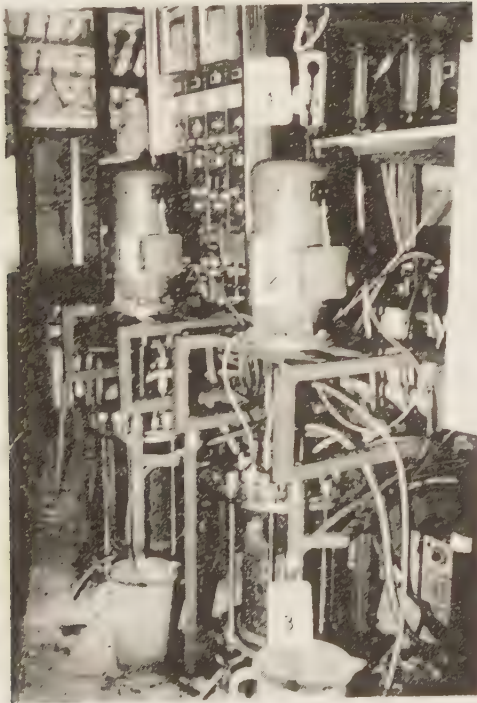


Abb. 2: 2 Fermentereinheiten mit zugehöriger Steuereinheit
1: Steuereinheit, 2: Rührmotor, 3: Kulturgefäß

Die Versuchsanlage bestand aus 4 Fermentereinheiten (Biostat V, Braun-Melsungen) mit zugehöriger Meß- und Regeleinrichtung (Abb. 2).

Die zylindrischen Kulturgefäße hatten ein Gesamtvolumen von jeweils etwa 5 l und wurden mit einem Arbeitsvolumen von maximal 3 l betrieben. Die Temperierung ($\pm 1^\circ\text{C}$) erfolgte

durch interne Wärmetauscher mit Hilfe geschlossener Umlaufthermostaten (Thermomant, Braun-Melsungen). Die Fermenter wurden mit etwa 1-2 l Luft/min begast. In der Abluft enthaltener Wasserdampf wurde in einem Abgaskühler kondensiert, dessen Anschlußstutzen in einem der Deckeldurchlässe des Fermenters steckte. Rührung und Verwirblung der eingeblasenen Luft erfolgte mit 3 an einer gemeinsamen Achse angebrachten 6-flügeligen Blattrührern. Die Fermenter waren werksseitig mit einem unter dem Kulturgefäß hängenden Motor und einer Rührwellendurchführung durch den Gefäßboden ausgerüstet. Die Abdichtung dieser Welle erwies sich sehr schnell als ungeeignet für den Dauerbetrieb mit sandhaltigen Substraten wie Klärschlamm. Erst ein Umbau der Fermenter (Hochsetzen des Motors, Antrieb der Rührwelle über eine Durchführung im Gefäßdeckel) ermöglichte einen problemlosen Langzeiteinsatz der Anlage auch bei hohen Rührerdrehzahlen (700-800 Upm). Derart hohe Rührerdrehzahlen waren zum einen notwendig, um alle Versuche bei optimaler Sauerstoffversorgung durchführen zu können -der Sauerstoffgehalt im Substrat lag in der Regel bei über 80% des jeweiligen Sättigungswertes. Zum anderen stellte sich heraus, daß bei hohen Drehzahlen ein Überschäumen der Reaktoren mit Hilfe eines Schneidetellers auf der Rührerachse eher verhindert werden konnte als bei niedrigen Drehzahlen.

2.2. Substrate

Das in den Laborversuchen eingesetzte organisch hochbelastete Primärabwasser stammt aus einer Hefefabrik, in der Zuckerrübenmelasse als organisches Substrat für die Produktion von Backhefe verwendet wird.

Pro Tonne verarbeiteter Melasse fallen etwa 6 m³ hochbelastetes Abwasser an (CSB ca. 25000 mg O₂/l), das noch im Betrieb durch etwa die gleiche Menge Wasch- und Spülwasser verdünnt wird. Entsprechend den Produktionsabläufen schwankt die Belastung des resultierenden Mischabwassers in weiten

Bereichen. Um dennoch vergleichende Untersuchungen unter möglichst konstanten Zulaufbedingungen durchführen zu können, übernahmen wir in der Regel einmal wöchentlich größere Mengen Abwasser aus den beiden Hauptfraktionen der hochbelasteten Betriebsabwässer und mischten entsprechend den produktionstechnischen Gegebenheiten im Betrieb 4 Teile Würze (Kulturüberstand nach Separation der Hefezellen) und 1 Teil Schlempe (Rückstand aus der Alkoholdestillation). Dieses Gemisch mit einem CSB von rund 20000-25000 mg O_2/l repräsentiert in seiner Zusammensetzung die Hauptmenge der hochbelasteten Abwässer aus der Hefeproduktion. Es wurde mit Leitungswasser auf definierte CSB-Konzentrationen verdünnt und bis zur Verwendung kühl gelagert.

Als Beispiel organisch hochbelasteter Sekundärabwässer, wie sie im Zuge der Abwasserreinigung anfallen, wurde Klärschlamm der kommunalen Kläranlage München-Großlappen verwendet. Als Substrate getrennter Versuchsansätze diente sowohl Primärschlamm (Absetzschlamm aus der mechanischen Reinigungsstufe) als auch Sekundärschlamm (Bakterienmasse aus der biologischen Reinigungsstufe). Um wiederum gleiche Zulaufqualitäten über längere Versuchszeiträume zu gewährleisten, wurde jeweils eine größere Schlammcharge intensiv gemischt und bis zur Verwendung portionsweise bei $-18^{\circ}C$ eingefroren. Der aufgetaute Rohschlamm (Schlammbedarf einiger Tage) wurde intensiv mit einem Ultraturrax homogenisiert und bis zur Verwendung kühl gelagert.

2.3. Versuchsdurchführung

Bei allen Versuchen mit Hefeabwasser wurden die Fermenter kontinuierlich betrieben. Substratzufuhr erfolgte mit Hilfe von Schlauchpumpen, das Arbeitsvolumen im Fermenter wurde durch einen höhenverstellbaren Überlauf eingestellt und konstant gehalten.

Die Klärschlammreaktoren wurden halbkontinuierlich betrieben,

da die heterogene Zusammensetzung des Schlammes eine kontinuierliche Förderung dieses Substrates im Labormaßstab unmöglich machte. Der Substratwechsel wurde in 12 bzw. 24 h-Intervallen vorgenommen: zunächst wurde behandelter Schlamm durch ein Tauchrohr bis auf einen definierten Füllstand des Reaktors abgesaugt, dann wurde ein entsprechendes Volumen Rohschlamm durch eine zweite, zeitgesteuerte Pumpe zugegeben.

Alle Untersuchungen wurden unter steady-state-Bedingungen der Fermenter durchgeführt. Bei allen Veränderungen der Betriebsparameter (Temperatur, Raumbelastung) wurde stets die Einstellung eines neuen Gleichgewichtszustandes abgewartet. Bei Umstellung auf andere Betriebstemperaturen wurden die Fermenter vor allem im thermophilen Temperaturbereich jeweils 1-2 Wochen mit sehr niedrigen Durchsatzraten betrieben und mit temperatur- und substratadaptierten Belebtschlämmen angeimpft, die noch von früheren Untersuchungen zur Verfügung standen. Nach dieser Anfahrphase folgte eine Adaptationsperiode unter den gewünschten Betriebsbedingungen über die Dauer von mindestens 1-2 Wochen. Im anschließenden Untersuchungszeitraum, der mindestens 2 Wochen, in der Regel jedoch 4-8 Wochen und mehr betrug, wurden fast täglich Proben aus den Reaktoren gezogen und untersucht.

2.4. Abwassertechnische Analytik

2.4.1. Trockensubstanz (TS) und organische Trockensubstanz (oTS)

Die Trockensubstanz einer Probe wurde als Trockenrückstand, die organische Trockensubstanz als Glühverlust des Trockenrückstandes bestimmt.

Geräte:

Porzellanschälchen, Analysenwaage, Trockenschrank, Glühofen, Exsikkator

10-20 ml der homogenisierten Probe wurden in getrocknete Porzellanschälchen mit bekanntem Gewicht pipettiert und über Nacht bei 105°C getrocknet. Nach Erkalten der Schälchen im Exsikkator wurden diese auf der Analysenwaage gewogen (Meßgenauigkeit ≤ 1 mg).

Berechnung

$$TS \text{ (g/l)} = \frac{b-a}{v_p} \times 1000$$

b = Gewicht der Schale mit Trockenrückstand (g)

a = Gewicht der leeren Schale (g)

v_p = Probevolumen (ml)

Zur Bestimmung des Glühverlustes wurde die Schale mit dem Trockenrückstand 2 h (Abwasserproben) bzw. 4 h (Schlammproben) bei 550°C geglüht und nach Erkalten im Exsikkator erneut gewogen.

Berechnung

$$oTS \text{ (g/l)} = \frac{b-c}{v_p} \times 1000$$

b = Gewicht der Schale mit Trockenrückstand (g)

c = Gewicht der Schale mit Glührückstand (g)

v_p = Probevolumen (ml)

Alle Bestimmungen wurden zweifach durchgeführt.

2.4.2. Schlammgehalt (TS_R)

Da die organische Substanz des frischen Hefeabwassers praktisch vollständig in gelöster Form vorliegt, ergibt sich der Schlammgehalt der mit diesem Abwasser betriebenen Reaktoren aus der Differenz des TS-Gehaltes einer homogenisierten Probe (Gesamt-TS) und einer zentrifugierten Probe (lösliche TS).

Geräte:

Sorvall-Zentrifuge, Rotor SS 34

Die Zentrifugation der Proben erfolgte 15 min bei etwa 18000 Upm.

2.4.3. Chemischer Sauerstoffbedarf (CSB)

Die Bestimmung erfolgte nach einer modifizierten Version der Hach-Methode (Wolf und Nordmann, 1977). Als Oxidationsmittel dient $K_2Cr_2O_7$; Cr^{6+} (gelb) wird bei Anwesenheit oxidierbarer Substanzen zu Cr^{3+} (grün) reduziert, das photometrisch bei einer Wellenlänge von 615 nm bestimmt werden kann.

Geräte:

Verschraubbare Reaktionsröhrchen (Hach Chemical Company, Ames, USA); Metallblockthermostat (Liebisch, Bielefeld); Photometer Spectronic, Bausch und Lomb).

Reagenzien:

Reaktionslösung: 5 g $K_2Cr_2O_7$ p.a. und 10 g Ag_2SO_4 p.a. werden unter Rühren in einer Säuremischung aus 750 ml H_2SO_4 p.a. ($d = 1,84$) und 250 ml H_3PO_4 p.a. ($d = 1,71$) gelöst; die Lösung wird kühl und dunkel aufbewahrt.

Eine Maskierung von Cl^- -Ionen erwies sich in unserem Fall als nicht notwendig; auf den üblichen Zusatz von $HgSO_4$ zur Reaktionslösung wurde daher verzichtet.

Eichlösung:

850,2 mg $C_8H_5KO_4$ p.a. (Kaliumhydrogenphthalat) in 1 l H_2O bidest. Diese Lösung hat einen CSB von 1000 mg O_2/l ; sie ist bei kühl und dunkler Lagerung mehrere Wochen haltbar.

2 ml der mit bidestilliertem Wasser verdünnten Probe wurden in ein verschraubbares Borosilikatglas-Röhrchen pipettiert, das bereits 3 ml der Reaktionslösung enthielt. Nach Ver-

schließen und vorsichtigem Durchmischen wurde die Probe 2,5 h bei 140°C im Metallblock-Thermostat inkubiert. Die erkalten Proben wurden im Photometer gegen eine gleich behandelte Blindprobe (3 ml Reaktionslösung + 2 ml H₂O bidest.) gemessen. Mittels einer Eichgeraden, die mit verschiedenen Konzentrationen der Eichlösung erstellt wurde, wurde der CSB der Proben berechnet. Der CSB der zu messenden Probe sollte in einem Bereich ≤ 1000 mg O₂/l liegen. Alle Bestimmungen wurden dreifach angesetzt.

2.4.4. Biochemischer Sauerstoffbedarf (BSB)

Unter dem biochemischen Sauerstoffbedarf versteht man die Menge Sauerstoff, die von Mikroorganismen verbraucht wird, um Abwasserinhaltsstoffe bei 20°C zu oxidieren (DEV zur Wasseruntersuchung, 1985).

Gerät:

Sapromat (Voith, Heidenheim)

Reagenzien:

Natronkalk: Merck Nr. 6839

Nährsalzlösungen: Stammlösungen nach DEV zur Wasseruntersuchung (1985), Blatt H 5.

Allylthioharnstoff: 10 g ATH/l H₂O dest. (Stammlösung)

Verdünnungswasser: je 1 ml der Nährsalzlösungen und 0,3 ml der ATH-Lösung ad 1 l H₂O dest. Diese Lösung muß zehrungs- und CO₂-frei sein; dies wird durch mehrstündiges Durchleiten von CO₂-freier Luft aus einer KOH-Waschflasche gewährleistet.

Verdünnte Proben wurden in die Reaktionsgefäße des Sapromaten gefüllt, die nach Temperaturadaption angeschlossen wurden. Der pH-Wert der Ansätze wurde bei Bedarf auf 7,0 eingestellt. Der Sapromat liefert den durch die Atmung der Mikroorganismen verbrauchten Sauerstoff laufend aus einer CuSO₄-Elektrolysezelle nach, so daß Sauerstoffverarmung im Reaktionsgefäß vermieden wird. Das bei der Atmung entstehende CO₂ wird durch

Natronkalk im Gasraum der Reaktionsgefäße absorbiert. Nitrifikation wird durch die Anwesenheit von ATH unterbunden. Die O_2 -Zehrung der Proben wurde in der Regel über 5 Tage (BSB_5), in Einzelfällen über 20 Tage (BSB_{20}) verfolgt. Alle Bestimmungen wurden doppelt angesetzt. Die Proben wurden im Fall des Hefeabwassers mit 0,5 ml gewaschenen Schlammes einer mit diesem Substrat bei Raumtemperatur betriebenen Belebungsanlage angeimpft. Im Fall des Klärschlammes wurde jeweils 1 ml eines Gemisches der vorangehenden BSB_5 -Ansätze zur Animpfung der frischen Proben verwendet.

2.4.5. Total Oxygen Demand (TOD) und Total Organic Carbon (TOC)

Die Bestimmung beider Parameter erfolgte gleichzeitig aus einer Probe mit Hilfe eines TOD/TOC-Analysers (Ionics). Dieses Gerät verbrennt eine verdünnte, angesäuerte Probe bei $900^\circ C$ in einem Quarzrohr, durch das ein konstanter Trägergasstrom (N_2/O_2) geführt wird. Die Abnahme von O_2 sowie die Zunahme von CO_2 im Verbrennungsgas wird mittels einer O_2 -Elektrode bzw. eines Infrarot-Detektors gemessen. Die Eichung des Gerätes erfolgte mittels Kaliumhydrogenphthalat-Standardlösungen.

2.4.6. Kalium

Die Bestimmung des Kaliumgehalts einer Probe erfolgte mit Hilfe eines Flammenphotometers (Eppendorf). Das Gerät wurde mittels Standardlösungen mit definiertem Kaliumgehalt geeicht.

2.4.7. Stickstoff

2.4.7.1. NH_3/NH_4^+ -Stickstoff

Die Bestimmung erfolgte maßanalytisch nach Destillation der Proben entsprechend DEV zur Wasseruntersuchung (1985), Blatt E 5. Das Destillat wurde in einer HCl-Vorlage aufgefangen; nicht durch NH_3 neutralisierte HCl wurde nach Be-

endigung der Destillation mit NaOH zurücktitriert.

2.4.7.2. Kjeldahl-Stickstoff

Die Bestimmung erfolgte entsprechend DEV zur Wasseruntersuchung (1985), Blatt H 11. Durch H_2SO_4 -Aufschluß wird organisch gebundener Stickstoff in NH_4^+ -Ionen übergeführt, die entsprechend Abschnitt 2.4.7.1. bestimmt werden.

2.4.7.3. Organisch gebundener Stickstoff

Der Gehalt einer Probe an organisch gebundenem Stickstoff ergibt sich aus der Differenz der Analysenwerte von Kjeldahl- und $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ -Stickstoff.

2.4.7.4. NO_3^- -Stickstoff

Die Bestimmung erfolgte photometrisch mittels p-Fluorphenol in Verbindung mit einer Wasserdampfdistillation entsprechend DEV zur Wasseruntersuchung (1985), Blatt E 9.

2.4.8. Orthophosphat

Die Bestimmung erfolgte photometrisch mittels Ammoniummolybdat entsprechend DEV zur Wasseruntersuchung (1985), Blatt D 11.

2.4.9. Protein

Der Proteingehalt einer Probe ergibt sich annähernd aus dem Gehalt an organisch gebundenem Stickstoff durch Multiplikation mit dem Faktor 6,25, der den durchschnittlichen Gewichtsanteil von Stickstoff an Protein berücksichtigt.

$$\text{Protein (g/l)} = (\text{Kjeldahl-N} - \text{NH}_3/\text{NH}_4^+\text{-N}) \text{ (g/l)} \times 6,25$$

2.4.10. Fett

Die Bestimmung erfolgte nach der Methode von Hallermayer (1976). Das im Schlamm enthaltene Fett wird mittels eines Methanol/Chloroform-Gemisches extrahiert und nach Abdampfen des Lösungsmittels gravimetrisch bestimmt.

Geräte:

Ultraturrax, Zentrifuge, Scheidetrichter, Aluschälchen, Heizplatte, Analysenwaage

Reagenzien:

Extraktionsgemisch: Methanol/Chloroform 1:1

NaCl-Lösung: 5,8 g NaCl/l H₂O dest.

10 ml der Schlammprobe wurden mit 35 ml Extraktionsgemisch versetzt, 30 sec mit dem Ultraturrax homogenisiert und anschließend 10 min bei etwa 3000 x g abzentrifugiert. Die obere der dabei entstehenden 3 Phasen wurde abgesaugt und verworfen. Der Rest wurde erneut mit 30 ml Extraktionsgemisch versetzt, homogenisiert und abzentrifugiert. Das Zentrifugat (gelb gefärbt) wurde in einen 100 ml Meßzylinder abdekantiert. Das Sediment, das nun die Feststoffe der Probe enthält, wurde noch zweimal mit je 30 ml Extraktionslösung extrahiert, die Zentrifugate vereinigt und gegebenenfalls mit Extraktionslösung auf 100 ml aufgefüllt. Dieser Extrakt wurde in einem Scheidetrichter mit 15 ml der NaCl-Lösung versetzt und geschüttelt. Nach Phasentrennung wurde die untere Phase (Chloroform), die das Fett enthält, in Aluschälchen abgelassen und auf einer Heizplatte bei 60-70°C im Abzug eingedampft. Die eingedampfte Probe wurde etwa 10 min im Trockenschrank bei 105°C getrocknet, im Exsikkator abgekühlt und auf der Analysenwaage gewogen.

Berechnung: Fettgehalt (g/l) = $\frac{b-a}{v_p} \times 1000 \times F$

a = Gewicht des leeren Aluschälchens (g/l)

b = Gewicht des Aluschälchens mit Fett (g/l)

v_p = Probenvolumen (ml)

F = Faktor, falls nur ein Teil des Extraktes ausgeschüttelt wurde.

2.4.11. Betain

Betain wurde durch Dünnschichtchromatographie von den übrigen Inhaltsstoffen des Hefeabwassers abgetrennt (Müller, 1980) und durch Bedampfen mit Jod sichtbar gemacht. Die quantitative Bestimmung erfolgte mittels eines Dünnschichtscanners.

Reagenzien:

Chromatographielaufmittel: Aceton/Methanol/HCl = 90/10/10

Färbemittel: kristallines Jod

Dünnschichtplatten: Kieselgel-60 ohne Fluoreszenzindikator (Merck)

Die Kieselgelplatten wurden zur Aktivierung 30 min bei 120°C getrocknet. Proben (2 µl) wurden 2 cm vom unteren Rand zusammen mit Standardlösungen in Abständen von 1,5 cm in einer Reihe aufgetragen. Die Platten wurden 2 h in einer Chromatographieküvette aufsteigend chromatographiert. Die Wände des Gefäßes waren mit in das Laufmittel eintauchendem Filterpapier ausgelegt, um die Atmosphäre der Küvette mit Lösungsmitteldämpfen zu sättigen. Nach Beendigung der Chromatographie wurden die Platten an der Luft getrocknet und zur Entwicklung zusammen mit einigen Jodkristallen mehrere Stunden in ein geschlossenes Gefäß gestellt. Dabei verfärbten sich die Substanzflecken braun auf hellgelbem Hintergrund. Eine Quantifizierung des Betaingehalts der Proben erfolgte mittels eines Dünnschichtscanners (Vitatron) durch Vergleich der Farbintensität der Substanzflecken von Proben und Standardlösungen.

2.4.12. Bräunungsprodukte

Als Maß für den Bräunungsgrad von Hefeabwasser- und Klärschlammproben diente deren Extinktion bei 254 nm (vgl. Sarfert und Peter, 1984). Der CSB-Gehalt der Bräunungsprodukte wurde nach Auftrennung des Hefeabwassers mittels

Ionenaustauschchromatographie über DEAE-Zellulose bestimmt.

Reagenzien

DEAE-Suspension in Phosphatpuffer pH 7,0

$(\text{NH}_4)\text{HCO}_3$ -Puffer: 10 mmol/l (Lösung 1), 0,2 mol/l (Lösung 2), 1 mol/l (Lösung 3), 2 mol/l (Lösung 4). Diese Lösungen wurden alle möglichst frisch mit entgastem H_2O bidest. angesetzt, um ein vorzeitiges Ausgasen des Puffers zu verhindern. Der pH-Wert des Puffers wurde mit konzentrierter NH_3 -Lösung auf 8,2 eingestellt.

20 ml einer in Phosphatpuffer gequollenen DEAE-Suspension wurden gleichmäßig in eine kurze Glassäule eingefüllt. Nach Sedimentation des Ionenaustauschers wurde der überschüssige Puffer langsam abgelassen und die Säule mit 10 ml Lösung 1 gespült. Die Säule (Bettvolumen 10 ml) wurde an eine Schlauchpumpe angeschlossen und mit mindestens 10 ml Lösung 2 äquilibriert. Dann wurden per Hand 5 ml einer etwa 3-fach aufkonzentrierten Probe blasenfrei auf die Säule aufgetragen. Nachdem das Probenvolumen in das Säulenmaterial eingedrungen war, wurde die Säule wieder mit Puffer (Lösung 2) überschichtet und über eine Schlauchpumpe gespült. Die Elution erfolgte in 2 h über einen linearen Gradienten von Lösung 2 und 3 mittels eines automatischen Gradientenmischers (LKB); die Flußrate betrug etwa 1 ml/min. Anschließend wurde noch etwa 30 min mit Lösung 4 nacheluiert. Die Eluate wurden mit Hilfe eines Fraktionskollektors gesammelt. Vor der weiteren Analyse wurden die Proben getrocknet und bis zur vollständigen Entfernung der Puffersubstanz mehrfach lyophilisiert.

2.4.13. Entwässerungsverhalten von Klärschlamm

100 ml einer Schlammprobe wurden in ein benetztes Faltenfilter (Schleicher und Schüll, Nr. 595 1/2, ϕ 150 mm) in einem Trichter gegeben. Das Filtratvolumen wurde nach 0,5 h, 1 h, 2 h und 24 h protokolliert. Die CSB-Belastung des Trübwassers wurde im 24 h Filtrat bestimmt.

2.4.14. Lysegeschwindigkeit von Bakterienzellen während der Schlammbehandlung

Um Anhaltspunkte darüber zu gewinnen, wie schnell Bakterienzellen lysieren, die als Rohschlamm in Schlammbehandlungsanlagen eingebracht werden, wurde eine Suspension von *Aquaspirillum peregrinum* DSM 1839 als Modellschlamm eingesetzt. Die Abnahme der charakteristischen Zellform dieses Keimes, der auch im Gemisch mit Klärschlamm im mikroskopischen Präparat eindeutig anzusprechen ist, diente als Kriterium für die Lyse von Bakterienzellen während der aeroben Behandlung des Schlammes.

Anzuchtmedium für *Aquaspirillum peregrinum* DSM 1839:

Pepton	10 g
Bernsteinsäure	1 g
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	1 g
$\text{MgSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$	1 g
$\text{FeCl}_3 \times 6 \text{ H}_2\text{O}$	2 mg
$\text{MnSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$	2 mg
H_2O dest	1 l
pH	6,8

Die Kulturen wurden abzentrifugiert, gewaschen und nach mikroskopischer Kontrolle der Zellform in physiologischer NaCl-Lösung (0,9% NaCl) suspendiert. Die Zelldichte dieser Suspension wurde so gewählt, daß im späteren Gemisch mit Klärschlamm (1:5) im Versuchsreaktor etwa $2,5 \times 10^{10}$ Zellen von *Aquaspirillum peregrinum*/ml vorlagen. Die Spirillenkeimzahl wurde mittels einer Bakterienzählkammer (Thomakammer) mikroskopisch bestimmt.

2.5. Mikrobiologische Analytik

2.5.1. Keimzahlbestimmungen

2.5.1.1. Gesamtkeimzahl und Zahl physiologisch aktiver Keime

Die Methode zur Gesamtkeimzahlbestimmung basiert auf der Markierung aller Nucleinsäure-haltigen Mikroorganismen durch den Fluoreszenzfarbstoff Acridinorange, die Bestimmung der physiologisch aktiven Keime auf der intrazellulären Reduktion von 2-(p-Jodphenyl)-3-(p-nitrophenyl)-5-phenyl-tetrazoliumchlorid (INT) durch Reduktionsäquivalente stoffwechselaktiver Keime (Zimmermann et al., 1978).

Geräte:

Schüttelwasserbad; Filterbank; Polycarbonat-Filter (Nucleopore Corp., Pleasanton, Kalif., USA), Porengröße: 0,2 μm , ϕ : 25 mm; Auflichtfluoreszenz-Mikroskop (Zeiss, Oberkochen): Hg-Hochdrucklampe, Erregerfilter: G 436, Farbteiler: FT 510, Sperrfilter: LP 520, Objektiv: Neofluar 100x/1,3 Öl, Ph 3, Okular: CPLW 10x/18 mit Netzquadrat.

Reagenzien:

Physiologische NaCl-Lösung: 9,8 g NaCl/1 H_2O dest;
INT (Aldrich-Chemie, Steinheim): 20 mg in 10 ml H_2O dest;
Acridinorange (Merck): 100 mg in 1 l physiol. NaCl-Lösung
Sudanschwarz: 7 mg Sudanschwarz in 50 ml Äthanol p.a. lösen, dann 50 ml H_2O dest zufügen;
Fructose: gesättigte Lösung in H_2O dest;

Vorbehandlung der Filter:

Zur Unterdrückung der Hintergrundfluoreszenz wurden die Filter über Nacht in der Sudanschwarz-Lösung vorgefärbt. Die Filter wurden vor Gebrauch zweimal in H_2O dest gewaschen.

Färbevorgang:

10 ml einer 10-fach mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnten Probe wurden mit 1 ml der INT-Lösung 30 min bei in situ-Temperatur des jeweils untersuchten Reaktors im Schüttelwasserbad inkubiert. 5 ml von geeigneten Verdünnungen (10^{-2} - 10^{-3}) dieses Ansatzes in physiologischer NaCl-Lösung wurden auf einer Filterbank durch die vorgefärbten und gewaschenen Polycarbonat-Filter gesaugt. Die beladenen Filter wurden wiederum auf der Filterbank vorsichtig mit 2 ml der Acridinorange-Lösung überschichtet. Nach 2 min Färbezeit wurde das überschüssige Acridinorange abgesaugt und die Filter zweimal mit je 10 ml physiol. NaCl-Lösung nachgespült. Danach wurden die Filter luftgetrocknet und auf Objektträger gelegt. Als Medium zwischen Filter und aufgelegtem Deckglas wurde gesättigte Fructoselösung verwendet.

Auswertung:

Unter dem Fluoreszenzmikroskop wurde ein repräsentativer Querschnitt von Gesichtsfeldern (mindestens 10-20) ausgezählt. Mit Hilfe des Okular-Netzquadrates wurde der Anteil der ausgezählten Fläche an der Gesamtfläche des Filters bestimmt. Die Gesamtkeimzahl einer Probe ergibt sich als Zahl aller fluoreszierenden Keime. Zum Zeitpunkt der Probenahme physiologisch aktive Keime sind an dunklen Unterbrechungen der Fluoreszenz durch intrazelluläre INT-Formazan-Ablagerungen zu erkennen.

Kontrolle:

Um Verfälschungen der Zählergebnisse durch Fremdorganismen auszuschließen, wurden die als Verdünnungs- und Waschlösung verwendete NaCl-Lösung sowie die Acridinorange-Lösung jeweils vor Gebrauch steril filtriert. Zusätzlich wurde ein Kontrollpräparat angefertigt, bei dem statt einer Probe 5 ml Verdünnungslösung durch ein Filter gesaugt wurden. Nach dem Färbevorgang sollte auf diesem Filter < 1 Keim/ Gesichtsfeld fluoreszieren.

2.5.1.2. Lebendkeimzahl (LKZ)

Die Bestimmung der Lebendkeimzahl wurde sowohl in Flüssigkulturen als auch auf festen Nährböden bei in situ-Temperaturen der jeweils untersuchten Anlagen durchgeführt. Die Bebrütung von Platten erfolgte in Brutschränken mit wasserdampfgesättigter Atmosphäre.

Medium zur LKZ-Bestimmung in der Hefeabwasser-Anlage:

KCl	7 g
Hefeabwasser (CSB ca. 20 g/l)	100 ml
H ₂ O dest	900 ml
Agar	15 g

Der pH-Wert der Nährlösung wurde vor dem Autoklavieren mit KOH auf 8,5 eingestellt.

Medium zur LKZ-Bestimmung in Klärschlammstabilisierungsanlagen (nach Ottow, 1974):

Glucose	1,0 g
Casein-Pepton (Merck)	7,5 g
Fleischextrakt (Oxoid, Merck)	5,0 g
Hefeextrakt (Oxoid, Merck)	2,5 g
Casaminoacids (Difco)	2,5 g
NaCl	5,0 g
Leitungswasser	1,0 l
Agar	10,0 g

Der pH-Wert der Nährlösung wurde vor dem Autoklavieren mit NaOH auf 8,5 eingestellt.

2.5.1.3. Keimzahlbestimmung mit Hilfe der Immunfluoreszenz

Gewinnung von Antiseren (Kretschmer, 1967)

Zur Immunisierung von Kaninchen wurden logarithmisch wachsende Reinkulturen von Bakterien verwendet. Die entsprechenden Flüssigkulturen wurden abzentrifugiert, 3x mit steriler PBS-Lösung (phosphate buffered saline) gewaschen und über

Nacht bei 37°C in 1,5% Formalin inkubiert. Anschließend wurde zur Entfernung des Formalins 5x in PBS gewaschen und die Dichte der Zellsuspension auf $OD_{578} = 1,0$ eingestellt. An den darauffolgenden 3 Tagen wurde Kaninchen jeweils 0,1 bzw. 0,2 und 0,3 ml dieser Suspension in die Ohrvene injiziert. Die Injektionsserie wurde nach jeweils einer Woche 2x mit steigenden Volumina wiederholt (0,4/0,6/0,8ml und 0,8/1,0/1,0 ml). Nach 4 Wochen wurden die Kaninchen ausgeblutet und das Serum nach Bildung des Blutkuchens abpipettiert; die Erythrozyten wurden durch Zentrifugation entfernt. Die IgG-Fraktion der Seren wurde durch Ammonsulfatfällung (Fällung bei 37%-iger Ammonsulfatsättigung angereichert. Der Protein-niederschlag wurde in wenig PBS aufgenommen und gegen denselben Puffer über 2 Tage bei dreimaligem Pufferwechsel dialysiert.

Titerbestimmung

Die Titerbestimmung der Antikörperpräparation wurde mit Hilfe des quantitativen immunenzymatischen Tests durchgeführt. Als Antigen dienten jeweils 200 µl des homologen Bakterienstammes, als Detektorsystem wurde Peroxidase-gekoppelter anti-Kaninchen-IgG Antikörper aus Ziege eingesetzt.

Geräte:

Eppendorf-Zentrifuge, Vortex-Mischer, Photometer

Reagenzien:

PBS: 8 g NaCl, 0,2 g KCl, 1,15 g $Na_2HPO_4 \times 2 H_2O$, 0,2 g KH_2PO_4
(pH 7,2)

BSA (bovine serum albumine): 7,5 mg/ml PBS

Peroxidase-gekoppelter anti-Kaninchen-IgG Antikörper aus Ziege (Serva): 1:1000 in BSA-Lösung verdünnen

ABTS (2,2' Azinobis(3-ethylbenzthiazolinsulfonsäure): Stamm-

lösung: 0,1 mol/l ABTS in 0,1 molarem Natriumacetatpuffer

pH 5,0; Testlösung: 19,8 ml 0,1 mol/l Na-Acetat, 0,2 ml ABTS-

Stammlösung, 20 µl H_2O_2 (30%); Lösung jeweils frisch ansetzen.

Arbeitsvorschrift:

1. geometrische Verdünnungsreihen der Antikörperpräparationen herstellen
2. je 100 µl jeder Verdünnung zu 200 µl Bakterienzellsuspension des homologen Antigens ($OD_{578} = 1,0$) pipettieren, mischen und 1 h bei Raumtemperatur inkubieren
3. 2 min zentrifugieren, Überstand abschleudern
4. 2x mit je 750 µl BSA-Lösung waschen, Überstand jeweils verwerfen
5. 100 µl anti-Kaninchen-IgG Antikörper aus Ziege zugeben, mischen, 1 h bei Raumtemperatur inkubieren
6. 2x mit je 750 µl BSA-Lösung waschen, Überstände jeweils verwerfen
7. 100 µl ABTS-Testlösung zugeben, mischen, 30 min bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubieren, alle 10 min leicht mischen
8. 1 ml H_2O bidest zupipettieren, mischen, 10 min zentrifugieren, Überstände bei 405 nm gegen Leerwert messen

Verdünnung und Lagerung der Antikörperpräparationen

Die Antikörperpräparationen wurden auf die niedrigste Antikörperkonzentration, die im quantitativen immunenzymatischen Test maximale Extinktion ergab, verdünnt und bei $-80^{\circ}C$ eingefroren.

Immunfluoreszenz-Test mit Klärschlammproben

Der Test beruht auf der Markierung von Mikroorganismenzellen durch die entsprechend der obigen Vorschrift präparierten Antikörper. Immunreaktion zwischen Antigen und Antikörper wird nach Entfernung überschüssiger Antikörper durch eine zweite Immunreaktion nachgewiesen: dabei reagiert ein mit einem Fluoreszenzfarbstoff (FITC) markierter Antikörper gegen Kaninchen-IgG mit den an Bakterienzellen gebundenen Antikörpern und macht damit die Bakterienzellen im Fluoreszenz-

mikroskop sichtbar. Der gesamte Markierungsvorgang wird in Eppendorf-Reaktionsgefäßen durchgeführt.

Geräte:

Eppendorf-Zentrifuge; Vortex-Mischer; Zellulose-Filter (Porengröße: $0,2\ \mu\text{m}$, ϕ : 25 mm); Filterbank; Auflichtfluoreszenz-Mikroskop (siehe Abschnitt 2.5.1.1.)

Reagenzien:

PBS: s.o.

BSA: 75 mg/ml in PBS (Lösung 1); 7,5 mg/ml in PBS (Lösung 2)

Antikörper-Lösung: Antiserum entsprechend des Antikörper-Titers mit Lösung 1 verdünnen

FITC-markierte anti-Kaninchen-IgG Antikörper (Serva): 10 μl mit 500 μl Lösung 1 verdünnen

Glycerinlösung: 60% (v/v) in PBS

Arbeitsvorschrift:

1. Schlammprobe entsanden; dazu wird die Probe ganz kurz (1 sec) in der Eppendorf-Zentrifuge anzentrifugiert.
2. Parallelproben (50-100 μl) in Eppendorf-Reaktionsgefäße pipettieren, 3 min abzentrifugieren, Überstand vorsichtig abschleudern
3. 30 μl Antiserum-Lösung zugeben, intensiv mischen, 20 min in der Kälte (Eiswanne) inkubieren
4. Überschüssige Antikörper durch 2-maliges Waschen mit je 750 μl Lösung 2 entfernen, jeweils 3 min zentrifugieren, Überstand vorsichtig abschleudern
5. 30 μl Lösung 1 zugeben (Verhinderung unspezifischer Antikörper-Bindungen), intensiv mischen, 20 min in der Kälte inkubieren
6. 3 min abzentrifugieren, Überstand vorsichtig abschleudern
7. 30 μl FITC-markierter Antikörper zugeben, intensiv mischen, 20 min in der Kälte inkubieren
8. 2x Waschvorgang (Schritt 4.) wiederholen

9. Vorbereitung der Proben zur mikroskopischen Auswertung:

- 9a) für qualitativen Test: Pellet in 50 µl Glycerin-Lösung aufnehmen und mikroskopieren
- 9b) für quantitative Auswertung: Pellet in wenig Lösung 2 aufnehmen, gut mischen und auf definiertes Volumen auffüllen (Lösung 2).
10. Gesamtvolumen oder definiertes Teilvolumen aus 9b) in Reagenzgläser mit 5 ml PBS überführen, gut mischen und auf der Filterbank auf Zellulose-Filter aufsaugen
11. Filter auf Objektträger auflegen, 1 Tropfen gesättigte Fructoselösung aufbringen, Deckglas auflegen und vorsichtig anpressen
12. Auszählung mittels eines Okular-Netzquadrates entsprechend Abschnitt 2.5.1.1.

Zu jedem getesteten Antiserum eines Ansatzes ist jeweils eine Kontrolle der Antigen/Antikörper-Reaktion mit dem homologen Antigen (Reinkultur des entsprechenden Stammes) mitzuführen.

2.5.2. Physiologische Testreaktionen

2.5.2.1. Katalase

Zellmaterial (Kolonie einer Reinkultur) wurde mit einem Tropfen Wasser auf einem Objektträger verrieben. Nach Zugabe eines Tropfens einer 10%-igen H_2O_2 -Lösung zeigt sich die Anwesenheit von Katalase an der Bildung von Gasblasen in dem Flüssigkeitstropfen.

2.5.2.2. Oxidase

Reagenzien:

N,N-Dimethylphenylendiammoniumchlorid: 1%-ige Lösung in H_2O dest (Lösung 1)

α -Naphthol: 1%-ige Lösung in 96%-igem Äthanol (Lösung 2)

Filterpapier wurde mit einem frischen Gemisch aus 3 Teilen Lösung 1 und 2 Teilen Lösung 2 getränkt. Zellmaterial (Kolonie einer Reinkultur) wurde mit einer Platinöse auf dem Papier verrieben. Oxidase-Aktivität zeigt sich in einer Blaufärbung der Zellen innerhalb einer Minute.

Diese Methode erbrachte keine eindeutigen Ergebnisse bei den Thermus-Isolaten; hier wurde der Oxidase-Test nach der Methode von Harrigan und Mc Cance (1966) durchgeführt.

2.5.2.3. Aerobes/anaerobes Wachstum auf/Säurebildung aus verschiedenen Zuckern

Sowohl Medium nach Smith et al. (1952) als auch Medium nach Ottow (1974) wurde als Basismedium verwendet. Die einzelnen Zucker wurden diesen Medien nach dem Autoklavieren sterilfiltriert zugegeben (Endkonzentration 5 g/l). Die Reaktion der Stämme wurde sowohl bei pH 7,0 als auch bei pH 8,5 getestet. Die Tests wurden auf Nährbodenplatten bei aerober Bebrütung bzw. anaerober Bebrütung im Anaerobentopf und in hoher Schicht in Röhrchen durchgeführt.

2.5.2.4. Hydrolyse von Stärke und Gelatine

Die Tests wurden nach Smith et al. (1952), sowie auf Medium nach Ottow (1974) durchgeführt, das Stärke bzw. Gelatine als zusätzlichen Bestandteil enthielt.

2.5.2.5. Hydrolyse von Casein

Die Reaktion wurde auf Fertigmedium (Merck) getestet.

2.5.2.6. Hydrolyse von Cellulose und CM-Cellulose

Die Tests wurden auf Medium nach Ottow (1974) bei pH 7,0 und 8,5 durchgeführt, das Cellulose bzw. Carboxy-Methylcellulose als zusätzliche C-Quelle enthielt; Cellulase-Aktivität wurde zusätzlich in Flüssigkulturen getestet, in die Filterpapierschnitzel eingebracht wurden.

2.5.2.7. Nitratreduktion

Nitratreduktion wurde in Flüssigmedien aus 9 g/l Pepton, 7 g/l NaCl und 1,5 g/l KNO_3 getestet. Nitritnachweis erfolgte durch Gries-Ilosvay-Reagenz; Test auf Nitrat erfolgte durch Zugabe von Zink-Staub.

2.5.2.8. NH_3 -Bildung

Die Bildung von NH_3 aus Pepton wurde in Flüssigkulturen mittels NeBlers Reagenz getestet.

2.5.3. Elektronenmikroskopie

Logarithmisch wachsende Flüssigkulturen wurden in 3,5% Glutaraldehyd in Gegenwart von Osmiumtetroxid fixiert (Ryter et al. (1958)). Die fixierten Zellen wurden in Epoxidharz eingebettet (Spurr, 1969), geschnitten und im Elektronenmikroskop untersucht.

2.5.4. Biochemische Analysen

2.5.4.1. Zellwandanalysen

Zellwände wurden nach den Methoden von Schleifer und Kandler (1972) präpariert. Zur zusätzlichen Reinigung wurden die Zellwand-Präparationen bei Bedarf mit BrCN nachbehandelt: Zellwände wurden in verschlossenen Röhrchen 12 h bei Raum-

temperatur im Dunkeln mit BrCN inkubiert (150 mg BrCN/mg Zellwand in 70%-iger Ameisensäure). Die Zellwände wurden je 3x mit 25% SDS und H₂O bidest gewaschen und lyophilisiert.

Qualitative Aminosäureanalysen wurden papierchromatographisch, quantitative Analysen wurden mit dem Aminosäureanalysator (Liquimat III, Kontron) durchgeführt. Die Konfiguration der Aminosäuren wurde mittels Gaschromatographie über Chirasil-Val (Chrompack, Mühlheim) bestimmt (Franck et al., 1983). Das Vorliegen von m-Diaminopimelinsäure wurde dünnschichtchromatographisch bestätigt; dazu wurden Totalhydrolysate der Zellwände nach Rhuland et al. (1955) auf Polygram Cel 400-Platten (Macherey und Nagel, Düren) chromatographiert.

2.5.4.2. Isoprenoid-Chinon-Typ und Fettsäurezusammensetzung

Isoprenoid-Chinone und Fettsäuren wurden nach den Methoden von Kroppenstedt (1982 und 1985) analysiert.

2.5.4.3. Pigmentanalyse

Pigmente von Thermus-Stämmen wurden aus ganzen Zellen mit Aceton extrahiert. Die Absorptionsspektren wurden mit einem Spektralphotometer (DB-GT, Beckmann) aufgenommen.

2.5.5. Molekulargenetische Untersuchungen

Zellen in der stationären Wachstumsphase wurden mit Hilfe von Glasperlen in einer Zelmühle aufgebrochen. Nach Zentrifugation wurde die DNS nach Methoden von Marmur (1961), Marmur und Doty (1962) in kurzkettiger Form aus dem Überstand isoliert.

2.5.5.1. Basenzusammensetzung der DNS

Der G+C-Gehalt der DNS wurde nach 2 verschiedenen Methoden bestimmt.

- a) Thermische Renaturierung nach De Ley et al. (1970); diese Bestimmung wurde am Gilford-Spektrophotometer System 2600 durchgeführt.
- b) Trennung und quantitative Analyse der Nucleotide durch HPLC nach enzymatischem Verdau der DNS durch Nuclease P1 (nach Zillig et al., 1980).

2.5.5.2. DNS/DNS-Homologie

Der Grad der DNS/DNS-Homologie wurde aus den DNS-Renaturierungsraten errechnet (De Ley et al., 1970; Huss et al., 1983). Die Bestimmung erfolgte ebenfalls mit Hilfe des Gilford-Spektrophotometers System 2600.

3. UNTERSUCHUNGEN ZUR TEMPERATURABHÄNGIGKEIT
DER ABBAULEISTUNG AEROBER
ABWASSER- UND SCHLAMMBEHANDLUNGSANLAGEN

3.1. EINLEITUNG

Voraussetzung für exakte Aussagen zur Temperaturabhängigkeit der Abbauleistung von Abwasser- und Schlammbehandlungsanlagen sind vergleichende Untersuchungen an Anlagen, die sich in keinem Betriebsparameter außer der Reaktortemperatur unterscheiden und in denen jeweils an die Betriebsbedingungen adaptierte Belebtschlämme vorliegen.

In Praxisanlagen sind Raumbelastung, Temperatur, Belüftung und Umwälzung mehr oder weniger großen Streuungen unterworfen, die sich vor allem aus den in der Regel kaum zu beeinflussenden Schwankungen der Substratqualität- und -quantität ergeben. Für vergleichende Untersuchungen zur Temperaturabhängigkeit der Abbauleistung sind daher Laboranlagen besser geeignet, in denen all die genannten Parameter exakt eingestellt beziehungsweise gezielt verändert werden können, und in denen auf Grund der über längere Zeiträume konstanten Betriebsbedingungen das Vorliegen adaptierter Mikrofloren gewährleistet ist.

Die Temperaturabhängigkeit der Abbauleistung der Laboranlagen wird im folgenden zunächst am Beispiel des Substrates "Abwasser aus der Hefeproduktion" untersucht. Die Inhaltsstoffe dieses Substrates liegen praktisch vollständig in gelöster Form vor. Dadurch wird eine differenzierte Analyse der Abbauleistung hinsichtlich "Gesamt-Abbau (Mineralisierung)" und "Reduktion der löslichen Belastung" sowie eine einfache Bestimmung der produzierten Biomasse möglich. Die Effizienz der einzelnen Anlagen wird sowohl summarisch bezüglich der Parameter CSB-, oTS- und BSB₅-Reduktion -, als auch hinsichtlich des Abbaus spezifischer Inhaltsstoffe untersucht.

Substrate weiterer Untersuchungen sind -in getrennten Versuchsansätzen- Primärschlamm (Absetzschlamm aus der Vorklärstufe) und Sekundärschlamm (Bakterienmasse aus der Belebungsstufe) des kommunalen Klärwerkes München-Großlappen.

Am Beispiel des letzteren Substrates wird -neben CSB-, BSB- und oTS-Abbau- untersucht, inwieweit sich mesophile und thermophile Anlagen hinsichtlich Protein- und Fettabbau unterscheiden. Auch ein Vergleich einiger Schlamm Eigenschaften wie Stabilisierungsgrad, Absetzbarkeit, Entwässerungsverhalten; Geruch und Lagerfähigkeit ist Ziel dieser Untersuchungen.

Ebenfalls mit Sekundärschlamm als Substrat wird untersucht, ob sich durch eine Kombination meso- und thermophiler Verfahren der Gesamtwirkungsgrad einer Schlammstabilisierungsanlage verbessern läßt.

Um schließlich Anhaltspunkte über die Leistungsfähigkeit aerob-thermophiler Schlammstabilisierungsanlagen im Praxisbetrieb zu erhalten, werden auch die entsprechenden Anlagen mehrerer kommunaler Klärwerke in die Untersuchungen einbezogen.

3.2 ERGEBNISSE

3.2.1. Behandlung von Abwasser einer Hefefabrik

In Tab. 1 sind die abwassertechnisch relevanten Summenparameter einschließlich des C-, N- und P- Gehaltes des auf CSB = 10000 mg O₂/l verdünnten Hefeabwassers zusammengefaßt.

Tab. 1: Organische Summenparameter und C-, N-, P- Gehalt des Hefeabwassers

CSB (g O ₂ /l)	10,0
BSB ₅ (g O ₂ /l)	7,6
BSB ₂₀ (g O ₂ /l)	9,4
TOD (g O ₂ /l)	13,5
TS (g/l)	12,8
oTS (g/l)	8,7
TOC (g/l)	4,6
N (Kjeldahl) (g/l)	0,7
P (g/l)	0,02

Auf Grund des hohen Gehaltes an Maillard-Produkten ist das Hefeabwasser dunkelbraun gefärbt. Diese Bräunungsprodukte haben einen Anteil von etwa 15-20% an der CSB- Belastung des Abwassers.

Betain als typischer Inhaltsstoff der Zuckerrüben-Melasse macht rund 20% der organischen Substanz des Hefeabwassers aus; charakteristisch ist auch der hohe Kalium-Gehalt von rund 1,6 g/l.

Das C:N- Verhältnis des Hefeabwassers liegt deutlich unter 16; erst über diesem Wert wäre ein Stickstoffzusatz nötig, um die Abbaueigenschaften des Abwassers zu verbessern (vgl. Steiner, 1983). Dagegen ist der P- Gehalt gemessen an dem in der Abwassertechnologie angestrebten Verhältnis von BSB_5 : N: P = 100:5:1 zu gering; dennoch hatte eine Erhöhung des P- Gehaltes keinen Einfluß auf die biologische Abbaubarkeit des Hefeabwassers.

3.2.1.1. Abbau der oTS- und CSB- Belastung

Die Temperaturabhängigkeit des oTS- und CSB- Abbaus wurde in Laboranlagen unterschiedlicher Raumbelastung im Bereich von 4,3 - 28 g oTS/lxd untersucht. Die Raumbelastung der Anlagen wurde durch Verkürzung der Retentionszeit (bei gleicher Substratkonzentration) und -im Bereich hoher Raumbelastungen- auch durch Erhöhung der Substratkonzentration gesteigert. Nach jeder Änderung der Betriebsparameter wurde die Einstellung eines neuen steady-state-Zustandes abgewartet; danach wurden über mehrere Wochen Proben aus den Reaktoren gezogen.

Raumbelastung: $B_R = 4,3 \text{ g oTS/lxd}$

Diese Belastung wurde mit einer Zulaufbelastung von 8,7 g oTS/lxd (CSB = 10 g O_2 /l) und einer hydraulischen Retentionszeit von 2 d eingestellt.

Die Versuchsergebnisse sind in Tab. 2 zusammengefaßt und in Abb. 3 graphisch dargestellt. Danach führt der aerobe Abbau bei mesophilen Temperaturen zu einer Reduktion der Gesamt-CSB-Belastung des Hefeabwassers auf knapp 60% der ursprünglichen Belastung. Die Anhebung der Betriebstemperatur der Anlagen auf 60°C bringt nur eine geringe Steigerung der Abbauleistung mit sich: die CSB-Restbelastung des Anlagenablaufes sinkt knapp unter 50% der Zulaufbelastung. Dagegen ist die CSB- Belastung im löslichen Anteil der Anlagen-

abläufe bei mesophiler Behandlung des Hefeabwassers am geringsten und steigt bei thermophiler Behandlung wieder leicht an.

Die Analyse des oTS- Gehaltes im Anlagenablauf ergibt ausgeprägte Optimumkurven mit einem Minimum der Restbelastung bei mesophiler Behandlung. Bei 35 - 40°C reduziert sich der oTS- Gehalt auf etwa 40% (Gesamt-Belastung) bzw. 20% (löslicher Anteil). Bei 60°C liegen dagegen noch über 60% bzw. 50% der zugeführten Belastung im Anlagenablauf vor.

Raumbelastung: $B_R = 8,7 \text{ g oTS/lxd}$

In dieser Versuchsreihe wurde unter Beibehaltung der Zulaufkonzentration die Verweildauer des Abwassers in den Reaktoren auf 1 Tag gekürzt. Damit ergibt sich gegenüber den vorhergehenden Versuchen eine Verdopplung der Raumbelastung der Anlagen. Die Versuchsergebnisse sind in Tab. 3 und Abb. 4 zusammengefaßt.

Der Übergang von psychrophilen zu mesophilen Betriebstemperaturen bewirkt eine deutliche Steigerung der Abbauleistung der entsprechenden Anlagen; die Restbelastung im Reaktorablauf (Gesamt-CSB) sinkt von etwa 75% bei 17°C auf etwa 60% bei 37°C. Die weitere Steigerung der Betriebstemperatur über den mesophilen Bereich hinaus bleibt ohne signifikanten Einfluß auf die Reduktion des Gesamt-CSB des Hefeabwassers.

Für den Anteil der Restbelastung, der weiterhin in gelöster Form im Anlagenablauf vorliegt, ergibt sich ein Minimum in einem weiten Bereich mesophiler Temperaturen. Zwischen 25°C und 45°C wird praktisch unabhängig von der Betriebstemperatur der Anlagen die lösliche CSB- Belastung des Hefeabwassers auf etwa 30% des Zulauf-CSB reduziert.

Im Vergleich zur Temperaturabhängigkeit der CSB- Reduktion ist der Einfluß der Betriebstemperatur auf den Abbau der oTS wiederum wesentlich stärker ausgeprägt. Sowohl für den Gesamt-Ablauf als auch für die lösliche Fraktion ergeben

sich eindeutige Optimumskurven. Die höchste Abbauleistung wird im Bereich hoch mesophiler Temperaturen (35 - 40°C) erzielt; hier wird die oTS des Hefeabwassers auf rund 45% (Gesamt-Ablauf) bzw. 25% (gelöster Anteil) der Zulaufbelastung reduziert. Mit Erhöhung der Betriebstemperatur steigt auch die oTS-Restbelastung im Ablauf wieder auf 65% bzw. 55% an.

Raumbelastung $B_R = 17 \text{ g oTS/lxd}$

Bei den folgenden Versuchen wurde zunächst wiederum die Zulaufkonzentration beibehalten und die Retentionszeit des Hefeabwassers in den Anlagen weiter verkürzt ($t_R=0,5 \text{ d}$). Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tab. 4 a und Abb. 5 dargestellt.

Die Steigerung der Raumbelastung durch Verkürzung der Retentionszeit hat einen drastischen Rückgang der Abbauleistung vor allem der mesophilen Anlagen zur Folge. Unter den oben angegebenen Betriebsbedingungen ist der 30°C-Reaktor mit einer CSB- Restbelastung von 75% im Gesamtablauf und 45% in der löslichen Fraktion gegenüber der 60°C-Anlage (60% bzw. 35% Restbelastung) deutlich unterlegen.

Das Minimum der oTS- Restbelastung wird bei Betriebstemperaturen um etwa 45°C erreicht. Die Restbelastung des Ablaufes liegt aber auch in diesem Fall noch bei über 60% (Gesamtablauf) bzw. 40% (löslicher Anteil).

Im folgenden wird untersucht, inwieweit die geringe Abbauleistung mesophiler Anlagen bei dieser hohen Raumbelastung durch die kurze Verweilzeit bedingt ist. Dazu wurde die gleiche Raumbelastung von etwa 17 g oTS/lxd durch Verdopplung der Zulaufkonzentration (oTS-Gehalt = 17 g/l; CSB = 20 g O_2 /l) und entsprechender Verlängerung der Retentionszeit auf 1 Tag eingestellt (Tab. 4 b, Abb. 6).

Bei thermophilen Temperaturen hat diese Umstellung der Betriebsparameter praktisch keinen Einfluß auf den CSB- Abbau.

Bei mesophilen Temperaturen bringt die Verlängerung der Retentionszeit zwar ebenfalls keine weitergehende Reduktion des Gesamt- CSB, aber die lösliche Restbelastung verringert sich sehr deutlich.

Für den Parameter σ_{TS} bewirkt die längere Retentionszeit bei allen Temperaturen ein Absinken sowohl der Gesamtbelastung als auch der löslichen Restbelastung im Anlagenablauf. Der Effekt ist jedoch bei mesophilen Temperaturen wesentlich größer als bei thermophilen Temperaturen.

$$\underline{\text{Raumbelastung } B_R = 28 \text{ g } \sigma_{TS}/\text{lxd} \text{ (} t_R = 0,5 \text{ d)}}$$

Ein steady-state-Betrieb der Reaktoren ist zwar auch bei dieser extrem hohen Raumbelastung möglich, aber die Abbauleistung geht unter diesen Bedingungen drastisch zurück. Mit einem Gesamt- σ_{TS} - Abbau von nur 8% bzw. 13% bei 30°C bzw. 60°C besitzen die Ergebnisse allerdings keine praktische Relevanz; auf eine detaillierte Darstellung der Daten wird deshalb verzichtet.

Tab. 2: CSB- und oTS-Belastung in Zu- und Ablauf der bei verschiedenen Temperaturen und niedriger Belastung ($B_R = \text{ca. } 4,3 \text{ g oTS/lxd}$) betriebenen Anlagen

Betriebszustand		Zulauf		Restbelastung des Anlagenablaufes ¹					
T °C	t_R d	CSB g O ₂ /l	oTS g/l	Gesamt-Ablauf		lösliche Fraktion des Ablaufes			
				CSB g O ₂ /l	% ²	oTS g/l	% ²	CSB g O ₂ /l	oTS g/l
30	2	10,2	8,2	5,8	57	3,8	46	2,6	1,9
37	2	10,0	8,6	5,7	57	3,6	42	2,5	1,8
45	2	9,7	8,3	5,2	53	3,7	45	2,4	2,2
50	2	10,2	9,0	5,3	52	4,3	48	2,8	2,8
60	2	10,2	9,0	5,0	49	5,8	64	3,2	4,5

1) arithmetisches Mittel; n = 30

2) bezogen auf die Zulaufbelastung

3) zur Diskrepanz der CSB- und oTS-Restbelastung: siehe Seite 46 und Abschnitt 3.2.1.4.

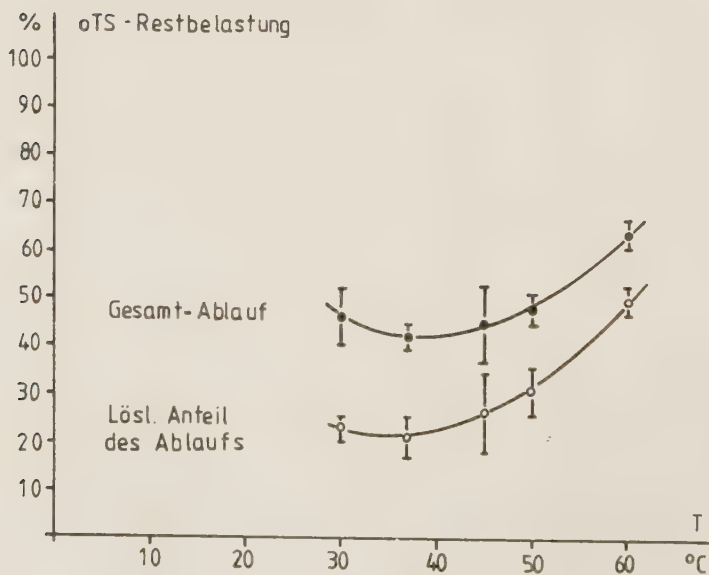
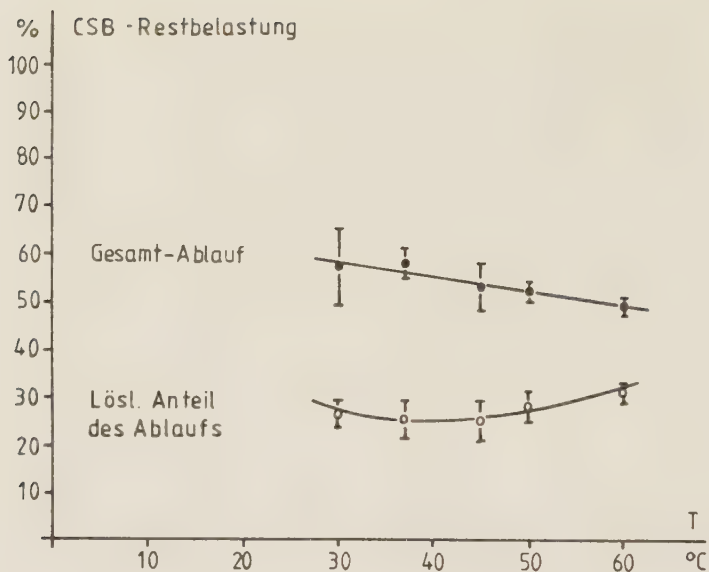


Abb. 3: Temperaturabhängigkeit der CSB- und oTS- Restbelastung der Anlagenabläufe (Mittelwerte $\pm \sigma$; $n = 30$)
 Betriebsparameter: $B_R = 4,3 \text{ g oTS/lxd}$; $t_R = 2 \text{ d}$

Tab. 3: CSB- und oTS-Belastung in Zu- und Ablauf der bei verschiedenen Temperaturen und mittlerer Belastung ($B_R = \text{ca. } 8,7 \text{ g oTS/lxd}$) betriebenen Anlagen

Betriebszustand		Zulauf		Restbelastung des Anlagenablaufes ¹ Gesamt-Ablauf								
T	t _R d	CSB g O ₂ /l	oTS g/l	CSB g O ₂ /l	% ²	g/l	oTS g/l	CSB g O ₂ /l	% ²	g/l	oTS g/l	% ²
17	1	9,9	8,7	7,6	76	6,0	69	4,3	43	4,1	47	
25	1	9,9	8,7	6,8	69	5,0	58	3,0	30	2,8	32	
30	1	10,1	8,4	6,8	68	4,7	56	3,2	32	2,5	30	
37	1	9,9	8,7	6,0	60	4,1	47	2,8	28	2,2	26	
45	1	9,7	8,3	6,0	61	4,3	52	3,0	31	2,6	31	
50	1	10,3	9,2	6,1	59	5,7	62	3,6	34	4,2	46	
60	1	10,3	9,2	5,9	58	6,1	66	3,9	37	5,0	54	

1) arithmetisches Mittel; n = 30

2) bezogen auf die Zulaufbelastung

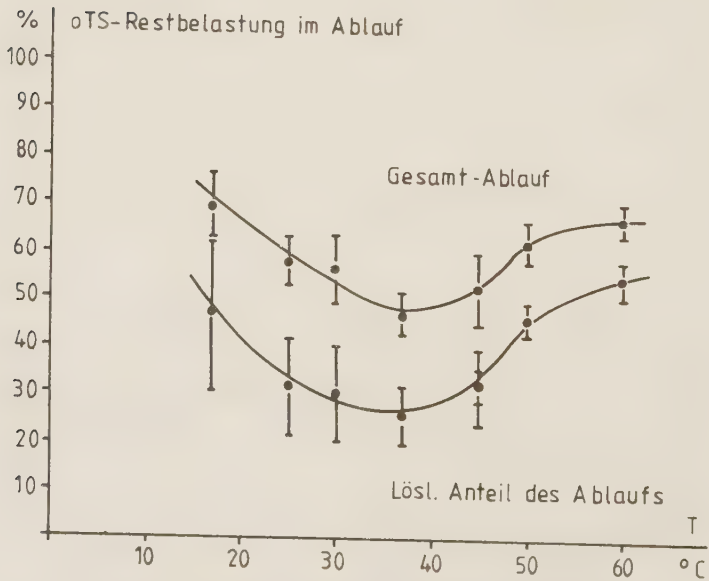
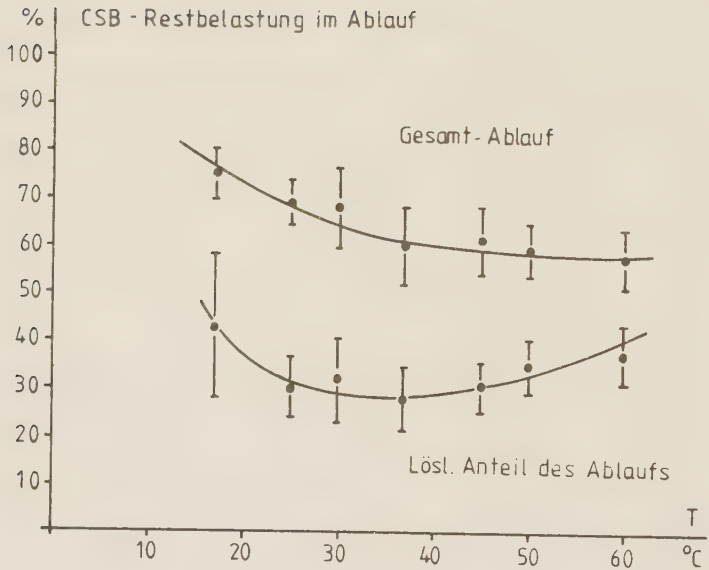


Abb. 4: Temperaturabhängigkeit der CSB- und oTS-Restbelastung im Anlagenablauf (Mittelwerte $\pm \sigma$; n = 30)
Betriebsparameter : $B_R = 8,7 \text{ g oTS/lxd}$; $t_R = 1 \text{ d}$

Tab. 4: CSB- und oTS-Belastung in Zu- und Ablauf der bei verschiedenen Temperaturen und hoher Belastung ($B_R = \text{ca. } 17 \text{ g oTS/lxd}$) betriebenen Anlagen

Betriebszustand		Zulauf		Restbelastung des Anlagenablaufes ¹ Gesamt-Ablauf						lösliche Fraktion des Ablaufes	
T	t _R	CSB	oTS	CSB	oTS	CSB	oTS	CSB	oTS	CSB	oTS
°C	d	g O ₂ /l	g/l	g O ₂ /l	% ²	g O ₂ /l	% ²	g O ₂ /l	% ²	g/l	% ²
30	0,5	10,3	8,4	7,8	76	6,3	76	4,7	46	4,5	54
37	0,5	10,0	8,6	7,8	78	5,8	67	4,6	46	4,0	47
45	0,5	9,7	8,3	6,6	68	5,2	63	3,6	37	3,4	42
60	0,5	10,2	8,2	6,0	59	5,8	71	3,6	35	4,4	54
30	1	20,0	17,1	14,9	75	9,4	55	7,4	37	4,8	28
50	1	20,4	16,9	13,0	64	9,4	56	8,0	39	6,6	39
60	1	20,8	17,2	11,3	54	10,5	61	7,6	37	8,2	48

1) arithmetisches Mittel; n = 30

2) bezogen auf die Zulaufbelastung

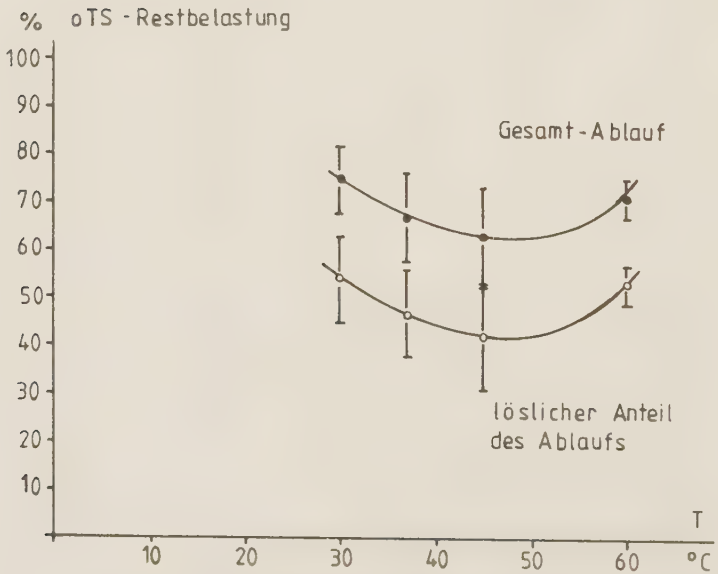
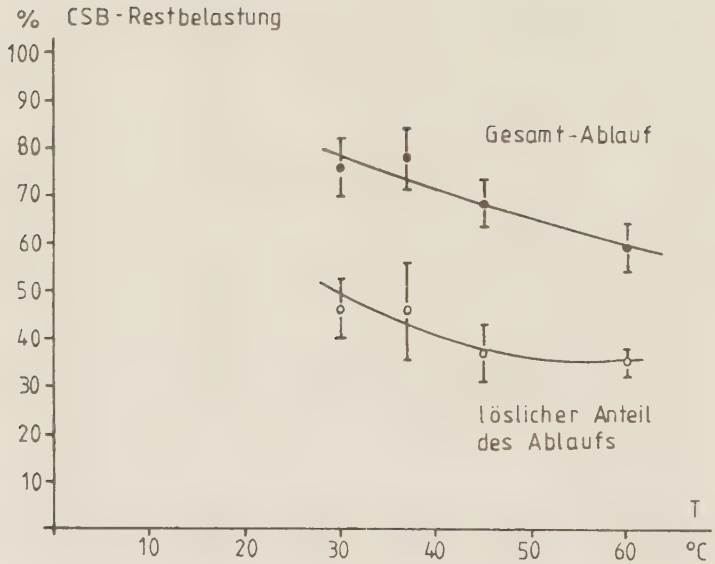


Abb. 5: Temperaturabhängigkeit der CSB- und oTS- Restbelastung im Anlagenablauf (Mittelwert $\pm \sigma$; $n = 30$
Betriebsparameter: $B_R = 17 \text{ g oTS/lxd}$; $t_R = 0,5 \text{ d}$

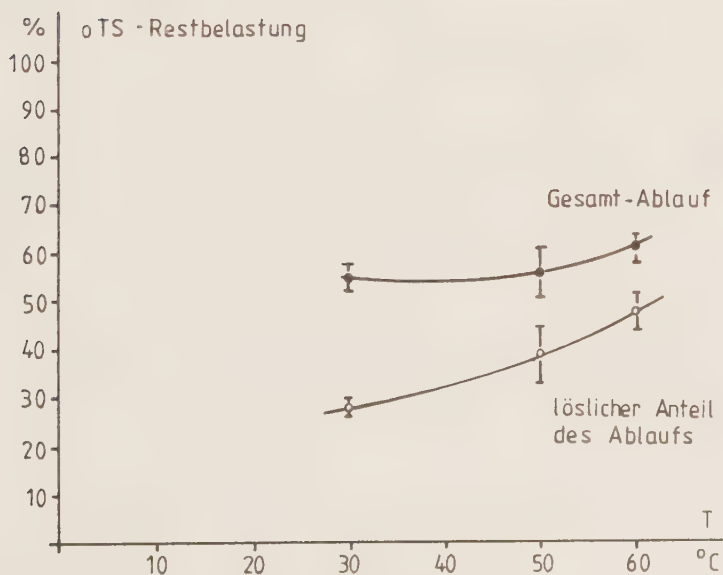
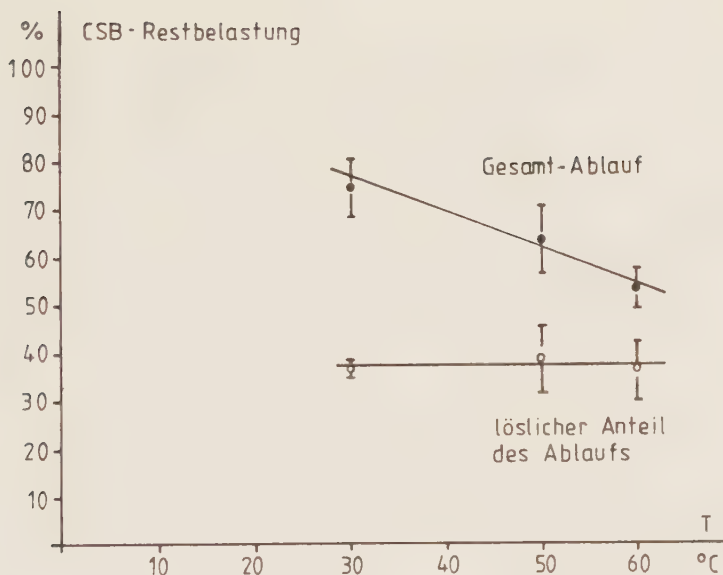


Abb. 6: Temperaturabhängigkeit der CSB- und oTS- Restbelastung im Anlagenablauf (Mittelwert $\pm \sigma$; $n = 30$)
 Betriebsparameter $B_R = 17 \text{ g oTS/lxd}$; $t_R = 1 \text{ d}$

Generell fällt bei einem Vergleich der CSB- und oTS-Daten der jeweiligen Versuchsserien auf, daß die CSB- Restbelastung im Ablauf der thermophilen Anlagen deutlich niedriger liegt als die oTS- Restbelastung. Bei den mesophilen Reaktoren dreht sich dieses Verhältnis dagegen eher um (Tab. 2-4). Wie im weiteren Verlauf der Untersuchungen gezeigt werden konnte, sind dafür Inhaltsstoffe des Hefeabwassers verantwortlich, die zwar bei der oTS- Bestimmung, jedoch nicht bei der CSB- Bestimmung erfaßt werden, und die bei thermophilen Temperaturen weit weniger abgebaut werden als bei mesophilen Temperaturen. Als solcher Inhaltsstoff konnte Betain identifiziert werden (vgl. Abschnitt 3.2.1.4.). Die zusammenfassende Darstellung des Einflusses der Raumbelastung auf die Abbauleistung meso- und thermophiler Anlagen in Abb. 7 beschränkt sich daher auf die für das Substrat "Hefeabwasser" aussagekräftigeren oTS- Daten. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wird die oTS- Restbelastung im Ablauf nur je einer mesophilen (30°C) und einer thermophilen Anlage (60°C) dargestellt.

Praktisch unabhängig von der Raumbelastung der Anlagen liegen im Ablauf der thermophilen Anlagen noch etwa 65% der zugeführten oTS vor; die lösliche oTS wird auf etwa 50% reduziert. Bei der mesophil betriebenen Anlage zeigt sich ein leichter Anstieg der Restbelastung bei zunehmender Anlagenbelastung; dies gilt sowohl für die Gesamt- oTS (40-50%) als auch für die oTS im Löslichen (20-30%).

Diese Darstellung zeigt noch einmal sehr deutlich, daß -unabhängig von der Belastung der Anlagen- die organische Substanz des Hefeabwassers bei thermophilen Temperaturen deutlich schlechter abgebaut wird als bei mesophilen Temperaturen.

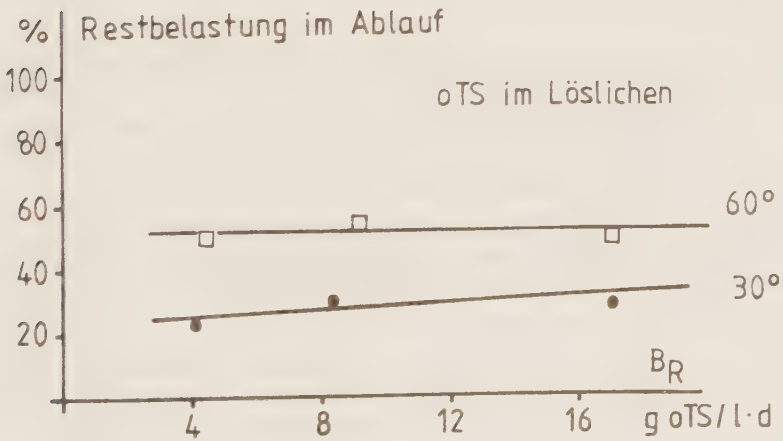
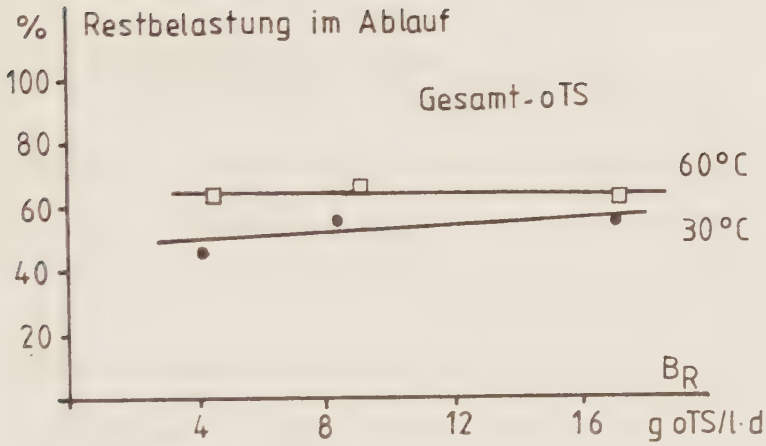


Abb. 7: Abhängigkeit der oTS- Restbelastung im Ablauf von der Raumbelastung der Anlagen

3.2.1.2. BSB₅- Abbau

Bei den Versuchen mit mittlerer Anlagenbelastung ($B_R = 8,7 \text{ g oTS/lxd}$; $t_R = 1 \text{ d}$) wurde der BSB₅- Gehalt im löslichen Anteil der Anlagenabläufe bestimmt.

Entsprechend dem Optimum des oTS- Abbaus im Bereich mesophiler Temperaturen liegt auch das Optimum der BSB₅- Reduktion bei etwa 25-35°C. Im Bereich dieser Temperaturen führt die 1-tägige Behandlung des Hefeabwassers zu einem rund 99%-igen BSB₅- Abbau (Tab. 5, Abb. 8).

Tab. 5 zeigt weiterhin, daß im optimalen Temperaturbereich um etwa 30°C dem minimalen BSB₅-Wert von 90 mg O₂/l ein CSB- Wert von rund 1800 - 1900 mg O₂ gegenübersteht.

Wie BSB₂₀- Bestimmungen von entsprechenden Proben ergaben, handelt es sich bei dieser Restbelastung des Hefeabwassers um ein gegenüber biologischen Oxidationsprozessen äußerst inertes Material.

In Tab. 5 fällt andererseits auf, daß der BSB₅-Gehalt der thermophilen Reaktorabläufe größer ist als der entsprechende CSB- Wert. Dieser scheinbare Widerspruch ist neben der bereits erwähnten Diskrepanz von CSB- und oTS- Abbau (vgl. 3.2.1.1.) ein weiterer Hinweis auf Betain als Inhaltsstoff der thermophilen Reaktorabläufe, der durch Cr⁶⁺ nicht oxidiert wird -also keinen CSB liefert-, aber bei mesophilen Temperaturen biologisch abbaubar ist und somit auch bei der BSB₅- Bestimmung erfaßt wird.

Tab. 5: BSB₅- und CSB-Werte im löslichen Anteil der Anlagenabläufe in Abhängigkeit von der Betriebstemperatur

Betriebsparameter: $B_R = 8,7 \text{ g oTS/lxd}$; $t_R = 1 \text{ d}$

Zulaufbelastung: BSB₅ = 7640 mg O₂/l

	$T_R \text{ (}^\circ\text{C)}$						
	17	25	30	37	45	50	60
BSB ₅ (mg O ₂ /l)	3750	200	90	90	1580	3850	4220
BSB ₅ -Abbau (%)	51	97	99	99	79	50	45
CSB (mg O ₂ /l)	5600	2180	1920	1770	3300	3590	4000



Abb. 8: BSB₅- Belastung im löslichen Anteil der Reaktorabläufe in Abhängigkeit von der Temperatur

Betriebsparameter: $B_R = 8,7 \text{ g oTS/lxd}$; $t_R = 1 \text{ d}$

3.2.1.3. Abbau organischer Stickstoffverbindungen

Im löslichen Anteil der Abläufe der mit mittlerer Raumbelastung ($B_R = 8,7 \text{ g oTS/lxd}$; $t_R = 1 \text{ d}$) betriebenen Anlagen wurden Kjeldahl -und NH_4^+ - Stickstoff und als Differenz beider Analysenwerte der organisch gebundene Stickstoff bestimmt.

In Übereinstimmung mit den bisher untersuchten Summenparametern (CSB, oTS, BSB₅) liegt auch das Temperaturoptimum für den Abbau organischer Stickstoffverbindungen des Hefabwassers im oberen mesophilen Temperaturbereich (Abb. 9) Entprechend ist der NH_4^+ - Gehalt in den mesophilen Reaktoren am höchsten (Tab. 6, Abb. 9). Allerdings dürfte auch NH_3 - Austrag bei hoher Temperatur, hohem pH-Wert und starker Belüftung bei den niedrigen $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ -N-Gehalten der thermophilen Reaktoren eine Rolle spielen. (vgl. Abschnitt 3.2.1.8).

Tab. 6: Kjeldahl- und NH_4^+ -Stickstoff im löslichen Anteil des Zu- und Ablaufes der Reaktoren

Betriebsparameter: $B_R = 8,7 \text{ g oTS/lxd}$; $t_R = 1 \text{ d}$

T_R (°C)	Zulauf (mg N/l)			Ablauf (mg N/l)		
	Kj-N	NH_4^+ -N	org. N	Kj-N	NH_4^+ -N	org. N
25	655	42	613	406	149	257
30	655	42	613	338	157	181
37	666	30	636	358	198	160
45	731	82	649	396	158	238
50	769	31	738	499	85	414
60	769	31	738	504	62	442

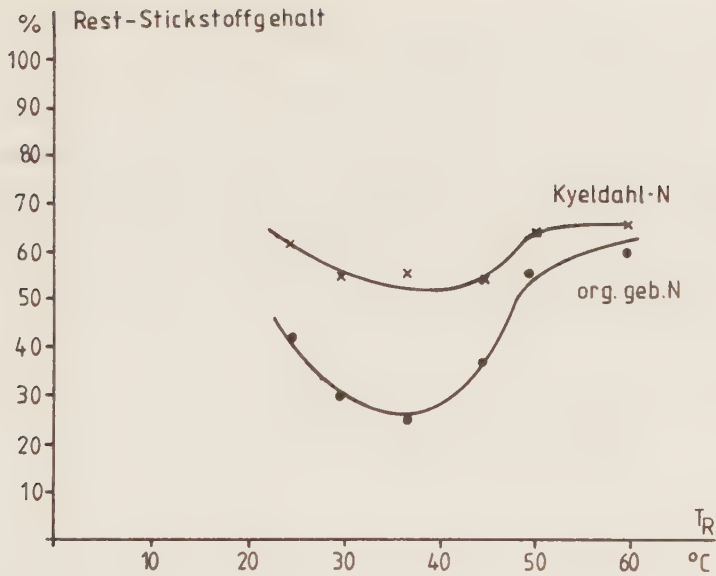


Abb. 9: Temperaturabhängigkeit des Rest-Stickstoffgehaltes
im löslichen Anteil der Anlagenabläufe
Betriebsparameter: $B_R = 8,7 \text{ g oTS/lxd}$; $t_R = 1 \text{ d}$

3.2.1.4. Abbau spezifischer Inhaltsstoffe

Betain- Abbau

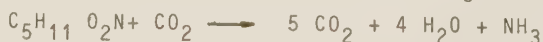
Betain, das etwa 20% der organischen Substanz des Abwassers ausmacht, wird bei mesophilen Temperaturen quantitativ abgebaut. Von der thermophilen Mikroflora der 50°C- und 60°C-Reaktoren kann Betain dagegen offensichtlich nicht als Substrat verwertet werden (Tab. 7)

Tab. 7: Betain- Gehalt im Hefeabwasser sowie im Ablauf meso- und thermophiler Reaktoren
(Betriebsparameter: $B_R = 17 \text{ g oTS/lxd}$; $t_R = 1 \text{ d}$)

Probe	Betain-Gehalt ¹ g/l	Abbau %
Zulauf	4,1	-
30°C-Ablauf	0,06	99
50°C-Ablauf	4,1	0
60°C-Ablauf	4,1	0

1) Bestimmung durch J_2 -Färbung nach Dünnschicht-chromatographischer Trennung

Betain kann zwar bei der Bestimmung von oTS und BSB_5 analytisch erfaßt werden, liefert jedoch bei der CSB- Bestimmung nur etwa 15% des theoretisch zu erwartenden Sauerstoffbedarfs: legt man folgende Oxidationsgleichung



zu Grunde, so ergibt sich ein theoretischer CSB von 1,641 g O_2 /g Betain, gegenüber dem experimentell bestimmten Wert von 0,272 O_2 /g Betain.

Abbau von Bräunungsprodukten

Eine Quantifizierung der im Hefeabwasser enthaltenen Bräunungsprodukte ist an Hand ihrer Absorbtion von kurzwelligem Licht möglich (vgl. Sarfert und Peter, 1984).

Abb. 10 zeigt das Absorbtionsspektrum einer enteiviweißten Probe des Hefeabwassers im Bereich von 200-800 nm.

Das Spektrum des Hefeabwassers zeigt eine Schulter bei etwa 250-260 nm und einen starken Absorbtiionsanstieg im kurzwelligen UV- Bereich. Als Maß für die Konzentration der Bräunungsprodukte dient die Extinktion bei $\lambda = 254$ nm.

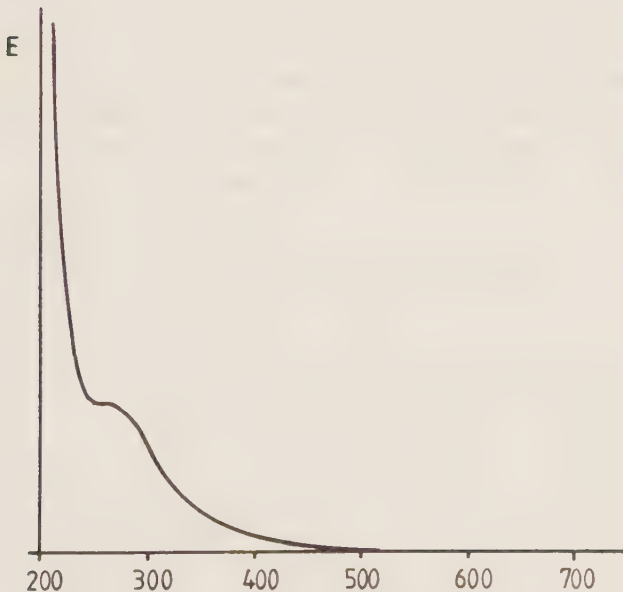


Abb. 10: Absorptionsspektrum von Hefeabwasser

Die Hauptmenge der Bräunungsprodukte konnte durch Ionenaustausch-Chromatographie über DEAE-Cellulose von den übrigen Bestandteilen des Hefeabwassers abgetrennt werden. Damit war es möglich, den Anteil der Bräunungsprodukte an der Gesamt-CSB-Belastung des Hefeabwassers zu bestimmen. Eine aufkonzentrierte Probe des Hefeabwassers wurde auf eine mit 200 mmol/l $(\text{NH}_4)\text{HCO}_3$ -Puffer (pH = 8,2) äquilibrierte DEAE-Säule aufgetragen und durch einen steigenden Gradient (bis 1 mol/l $(\text{NH}_4)\text{HCO}_3$) eluiert. Am Ende der Trennung wurde mit einer 2-molaren Lösung des gleichen Puffers nacheluiert.

Abb. 11 zeigt das Elutionsprofil einer Probe des Hefeabwassers. Um hochkonzentrierte Proben analysieren zu können, wurden die Elutionsprofile im Bereich relativ unempfindlicher Wellenlängen ($\lambda = 450 \text{ nm}$) aufgenommen. Fraktion I und II des Eluates enthalten den überwiegenden Anteil des Gesamt-CSB des Eluates (ca. 85%), aber nur etwa 15-20% der Bräunungsprodukte. Die restlichen 15% des Gesamt-CSB werden in Fraktion III und IV eluiert, in denen sich über 80% der Bräunungsprodukte der Probe finden.

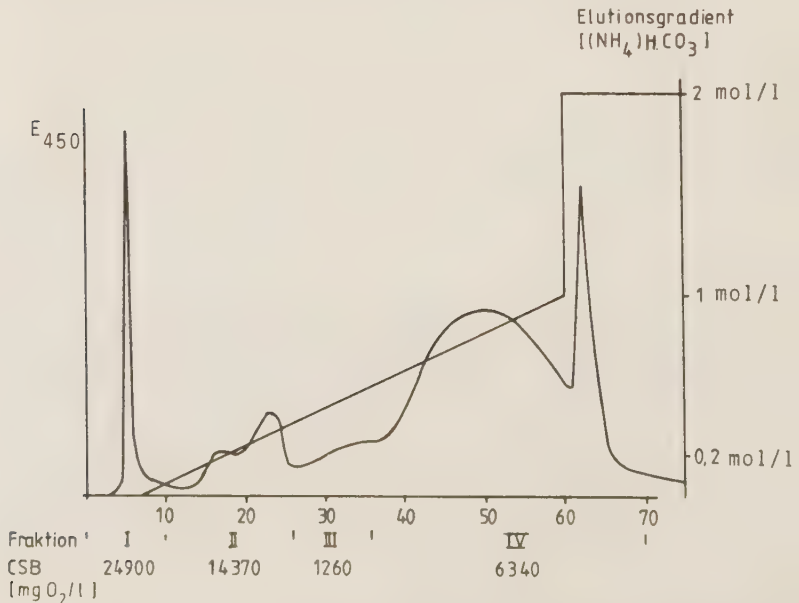


Abb. 11: Elutionsprofil von Hefeabwasser von einer DEAE-Säule

Die Abbaubarkeit der Bräunungsprodukte wurde bei 30 bis 60°C in hochbelasteten Anlagen ($B_R = 17 \text{ g oTS/lxd}$; $t_R = 1 \text{ d}$) sowie bei 20°C in einer niederbelasteten Anlage ($B_R = 0,6 \text{ g oTS/lxd}$; $t_R = 15 \text{ d}$) über CSB- Bestimmung und Extinktionsmessung geprüft.

Wie in Tab. 8 ersichtlich ist, erfolgt in den hochbelasteten Anlagen nur eine außerordentlich geringe Reduktion des Gehaltes an Bräunungsprodukten, die je nach Meßmethode zwischen 0 und 9% beträgt. Die Inertheit der Bräunungsprodukte gegen mikrobiellen Abbau bestätigt sich auch in der niederbelasteten Anlage, in der trotz relativ langer Retentionszeit auch nur ein etwa 20%-iger Abbau der Bräunungsprodukte erreicht wurde.

Tab. 8: Reduktion des Bräunungsgrades sowie des CSB- Gehaltes der Bräunungsprodukte durch aerobe Behandlung des Hefeabwassers in hoch- und niederbelasteten Anlagen

Betriebsparameter			Intensität der Färbung			CSB d. Bräunungsprodukte		
B_R	t_R	T_R	Zulauf	Ablauf		Zulauf	Ablauf	
(goTS/ lxd)	(d)	(°C)	E_{254}	E_{254}	Abbau(%)	$\text{g O}_2/\text{l}$	$\text{g O}_2/\text{l}$	Abbau(%)
17	1	30	53,4	48,5	9	3,0 ¹	3,0	0
17	1	60	53,4	52,3	2	3,0 ¹	2,9	3
0,6	15	20	26,7	20,9	22	1,5 ²	1,2	20

1) Gesamt- CSB des Zulaufs: 20 g/l

2) Gesamt- CSB des Zulaufs: 10 g/l

3.2.1.5. Festlegung organischer Substanz im Belebtschlamm

Wie in Abschnitt 3.2.1.1. an Hand von "Gesamtabbau" und "Reduktion der löslichen Belastung" gezeigt wurde, wird während der aeroben Abwasserbehandlung nur ein Teil der organischen Substanz, die dem Abwasser entzogen wird, auch vollständig mineralisiert. Der Rest wird in Form von Belebtschlamm festgelegt.

Im Hinblick auf die notwendige Weiterbehandlung und Beseitigung dieser Schlämme kommt dem Schlammgehalt im Ablauf einer Belebungsanlage große Bedeutung zu.

Der Schlammgehalt TS_R in den Reaktoren wurde als Differenz des TS - Gehaltes vor und nach Zentrifugation der Proben bestimmt. In Tab. 9 sind die entsprechenden TS_R - Daten aller untersuchten Anlagen aufgelistet. Daraus ist ersichtlich, daß der Schlammgehalt der Reaktoren sowohl von deren Betriebstemperatur als auch von deren Raumbelastung abhängt.

Tab. 9: Schlammgehalt TS_R (g/l) in den Reaktoren in Abhängigkeit von Betriebstemperatur und Raumbelastung

B_R g oTS/lxd	t_R d	Betriebstemperatur							
		17°C	25°C	30°C	37°C	45°C	50°C	60°C	
4,3	2	-	-	2,13	2,14	1,83	1,76	1,57	
8,7	1	2,07	2,44	2,35	1,97	1,80	1,62	1,45	
16,8	0,5	-	-	1,88	1,89	1,87	-	1,50	
16,8	1	-	-	4,80	-	-	3.06	2,40	

Um Anlagen unterschiedlicher Belastung miteinander vergleichen zu können, wurde aus den TS_R -Daten die Schlammproduktion der Anlagen pro Reaktorvolumen und Tag ($g \text{ } \bar{U}S_R / lxd$) errechnet und in Abb. 12 graphisch dargestellt. Wie diese Darstellung zeigt, ist die Schlammproduktion thermophiler Anlagen allgemein wesentlich geringer als die der mesophilen Anlagen, wobei der Unterschied umso deutlicher wird, je höher die Raumbelastung ist. In den mesophilen Reaktoren ($30^\circ C$) steigt etwa in dem Maß, in dem die Raumbelastung erhöht wird (von 4,3 auf $17 g \text{ } oTS / lxd$) auch die Schlammproduktion um den gleichen Faktor 4 an. Dagegen führt bei thermophilen Temperaturen ($60^\circ C$) dieselbe Steigerung der Raumbelastung nur zu einem etwa 3-fachen Anstieg der Schlammproduktion.

Wie darüber hinaus aus Abb. 12 hervorgeht, besteht - bei gegebener Raumbelastung - ein linearer Zusammenhang zwischen Betriebstemperatur und Schlammproduktion der Anlagen. Ein Abweichen von dieser Linearität im Bereich niedriger Temperaturen zeigt eindeutig eine Überlastung der betreffenden Anlagen unter den jeweiligen Betriebsbedingungen an. So führt die 1-tägige Retentionszeit bei der $17^\circ C$ -Anlage zu einer im Vergleich mit der $25^\circ C$ -Anlage deutlich reduzierten Schlammproduktion auf Grund der zu geringen Wachstumsrate der Bakterien unter diesen Temperaturbedingungen. Entsprechendes gilt für die Mikroflora der $30^\circ C$ - und $37^\circ C$ -Anlagen, die bei einer Retentionszeit von 0,5 Tagen auf das erhöhte Substratangebot ebenfalls nicht mit einer erhöhten Biomasseproduktion reagieren können.

Die relativ geringe Schlammproduktion und der entsprechend geringe Schlammgehalt dieser Reaktoren erklären somit die drastisch verminderte Abbauleistung der betreffenden Anlagen (vgl. Abb. 4 und Abb. 5).

Für den Bereich in dem die Abbauleistung nicht durch einen starken Schlammaustrag limitiert ist, läßt sich die Temperaturabhängigkeit der Schlammproduktion für die einzelnen Belastungszustände durch folgende Funktionen beschreiben:

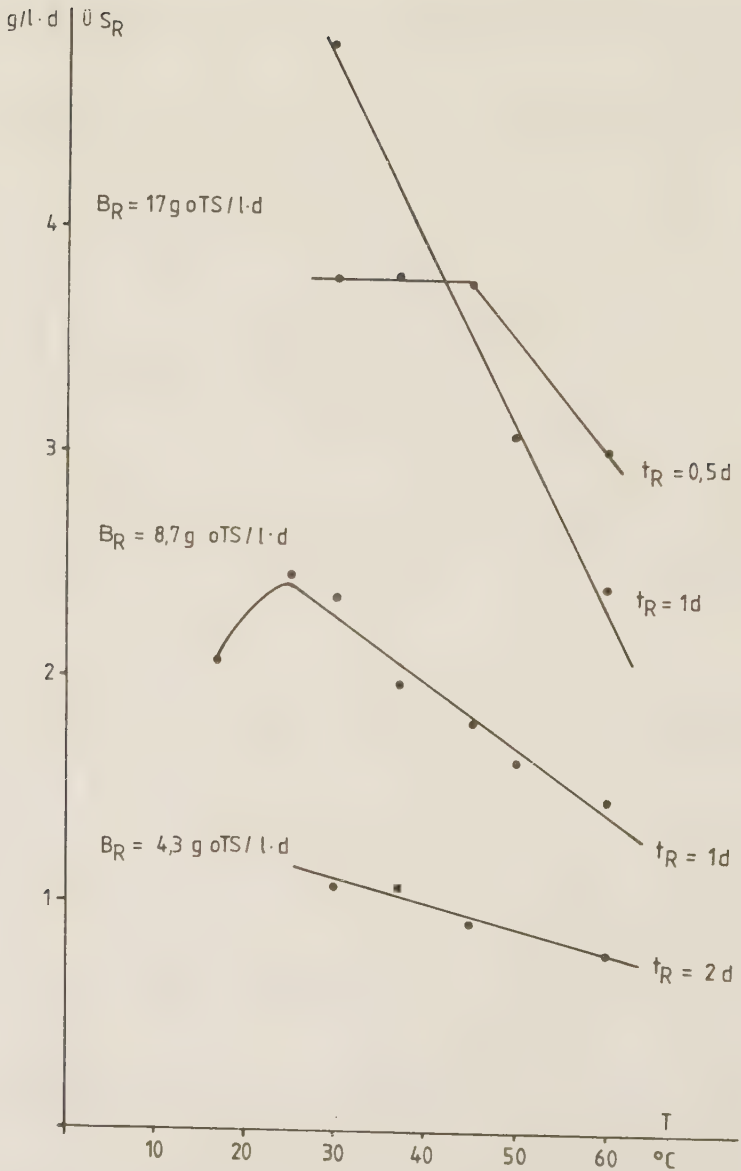


Abb. 12: Schlammproduktion der Reaktoren in Abhängigkeit von Betriebstemperatur und Belastung

Bei $B_R = 4,3 \text{ g oTS/lxd}$: $\bar{U}_{S_R} = -0,01 \times T_R [^\circ\text{C}] + 1,4$

bei $B_R = 8,7 \text{ g oTS/lxd}$: $\bar{U}_{S_R} = -0,03 \times T_R [^\circ\text{C}] + 3,2$

bei $B_R = 17 \text{ g oTS/lxd}$: $\bar{U}_{S_R} = -0,08 \times T_R [^\circ\text{C}] + 7,2$

Die Korrelationskoeffizienten der Funktionen betragen jeweils $\approx 0,97$.

Schlammbelastung

Mit Kenntnis des Schlammgehaltes in den Reaktoren ist die Angabe der Schlammbelastung B_{TS} möglich, in dem unsere Anlagen betrieben wurden ($B_{TS} = B_R : TS_R [\text{g oTS/g TSxd}]$). Abb. 13 zeigt den Zusammenhang zwischen Temperatur und Schlammbelastung bei unterschiedlicher Raumbelastung der zwischen 30°C und 60°C betriebenen Reaktoren. Bei der höchsten Raumbelastung ($16,8 \text{ g oTS/lxd}$) sind die Daten der bei einer Retentionszeit von 1 d betriebenen Anlagen aufgetragen.

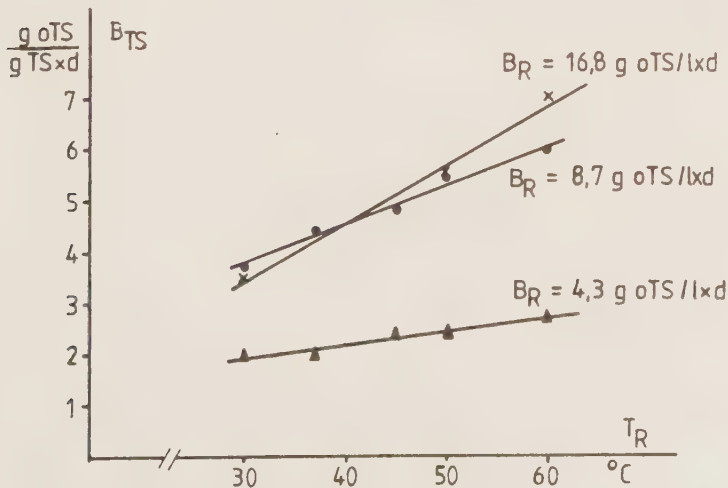


Abb. 13: Zusammenhang zwischen Temperatur und Schlammbelastung der Reaktoren bei unterschiedlicher Raumbelastung

Bei einer Anlagenbelastung von 4,3 g oTS/lxd ergibt sich eine Schlammbelastung zwischen etwa 2,0 g oTS/g TSxd (30°C) und 2,7 g oTS/g TSxd (60°C). Bei höheren Belastungen steigt die Schlammbelastung von rund 3,5 g oTS/g TSxd (30°C) auf 6-7 g oTS/g TSxd (60°C) an.

Wie in Abschnitt 3.2.1.1. gezeigt wurde, erwies sich die Abbauleistung unserer Reaktoren als praktisch unabhängig von der Raumbelastung, sondern hing in erster Linie von der Betriebstemperatur ab (siehe Abb. 7). Demnach darf die besonders bei hoher Anlagenbelastung sehr hohe Schlammbelastung der thermophilen Reaktoren keinesfalls als Grund der gegenüber mesophilen Anlagen geringeren Abbauleistung dieser Reaktoren verstanden werden, sondern ist vielmehr Hinweis dafür, daß thermophile Anlagen grundsätzlich mit weitaus höheren Schlammbelastungen betrieben werden können als mesophile Anlagen. Dies würde bedeuten, daß thermophile Anlagen ohne den technischen und betrieblichen Aufwand einer Schlammrückführung betrieben werden können.

3.2.1.6. Wachstumsertrag und Mineralisierungsleistung

Eine das Wachstum von Mikroorganismen kennzeichnende Größe ist der sogenannte Wachstumsertrag Y (growth yield), der durch das Verhältnis von "gebildeter Bakterienmasse" zu "Substratverbrauch" wiedergegeben wird.

Übertragen auf unsere Abbauversuche mit Hefeabwasser wird der Ertragskoeffizient der entsprechenden Mikroflora durch das Verhältnis von "im Schlamm festgelegte Biomasse (g oTS/l)" zu "Reduktion der löslichen oTS (g oTS/l)" beschrieben.

Die entsprechenden Ertragskoeffizienten bei unterschiedlicher Betriebstemperatur und Belastung der Anlagen sind in Tab. 10 dargestellt (zwei als Ausreißer angesehene Werte sind eingeklammert).

Tab. 10: Temperaturabhängigkeit des Ertragskoeffizienten Y bei unterschiedlicher Anlagenbelastung

$$Y = \frac{\text{oTS im Schlamm festgelegt (g oTS/l)}}{\text{Reduktion der löslichen oTS (g oTS/l)}}$$

B_R g oTS/lxd	t_R d	Betriebstemperatur					
		25°C	30°C	37°C	45°C	50°C	60°C
4,3	2	-	0,306	0,277	0,255	0,238	(0,280)
8,7	1	0,381	0,371	(0,288)	0,304	0,292	0,270
17,0	1	-	0,376	-	-	0,273	0,280

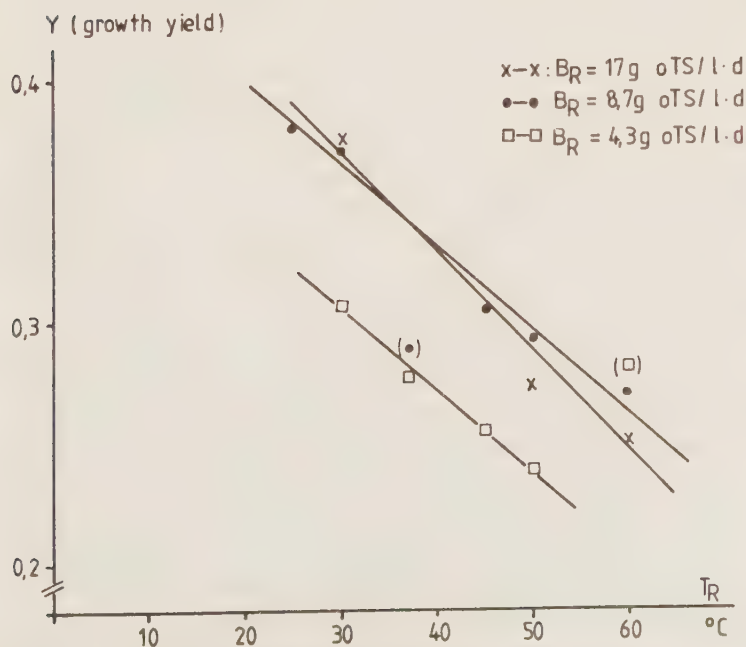


Abb. 14: Abhängigkeit des Ertragskoeffizienten von Betriebstemperatur und Raumbelastung der Anlagen

Wie aus der Zusammenstellung in Tab. 10 zu ersehen ist, wird mit steigender Temperatur pro g oTS- Reduktion weniger oTS in Form von Bakterienmasse festgelegt, d.h. bei entsprechender Abbauleistung produzieren thermophile Belebungsanlagen wesentlich weniger Schlamm als mesophile Anlagen.

In der graphischen Darstellung der Daten ergibt sich für einen bestimmten Belastungszustand wiederum eine lineare Abhängigkeit des Ertragskoeffizienten von der Betriebstemperatur der Anlagen (Abb. 14). Eine Steigerung der Anlagenbelastung von 4,3 auf 8,7 g oTS/lxd führt zunächst noch zu einer höheren Festlegungsrate der oTS im Belebtschlamm, eine weitere Belastungssteigerung auf 17 g oTS/lxd hat jedoch kaum noch Einfluß auf die Ertragskoeffizienten der entsprechenden Belebtschlämme.

Die Tatsache, daß sich bei den verschiedenen Belastungszuständen nahezu gleiche Geradensteigerungen für die Temperaturabhängigkeit von Y ergeben zeigt, daß offensichtlich die Änderung des Ertragskoeffizienten mit der Temperatur eine von der Anlagenbelastung unabhängige Größe ist.

Unter abwassertechnologischen Gesichtspunkten scheint es sinnvoller, statt des Ertragskoeffizienten die spezifische Abbauleistung des Schlammes in Form eines "Mineralisierungskoeffizienten" anzugeben, der das Verhältnis "mineralisierte oTS" zu "im Schlamm festgelegte oTS" angibt. Die entsprechenden Koeffizienten der einzelnen Anlagen sind in Tab.11 aufgelistet; eine graphische Darstellung der Temperaturabhängigkeit des Mineralisierungskoeffizienten bei unterschiedlicher Anlagenbelastung gibt Abb. 15. Mit steigender Betriebstemperatur steigt der Wert dieses Koeffizienten linear an, d.h., pro g oTS, das im Schlamm festgelegt wird, wird bei thermophilen Temperaturen wesentlich mehr Substrat vollständig abgebaut (mineralisiert) als bei mesophilen Temperaturen. Bei niedriger Raumbelastung ($B_R = 4,3$ g oTS/lxd) ist der Mineralisierungskoeffizient der entsprechenden Schlämme erwartungsgemäß am größten (Abb.15). Offensichtlich kommt es unter diesen Belastungsbedingungen bereits zu einer gewissen Eigenzehrung des Schlammes.

Tab. 11: Mineralisierungskoeffizient des Schlammes in
Abhängigkeit von Temperatur und Raumbelastung

$\frac{\text{oTS mineralisiert (g oTS/l)}}{\text{oTS im Schlamm festgelegt (g oTS/l)}}$

B_R g oTS/l·d	t_R d	Betriebstemperatur					
		25°C	30°C	37°C	45°C	50°C	60°C
4,3	2	-	2,27	2,63	2,91	3,21	(2,57)
8,7	1	1,63	1,70	(2,49)	2,30	2,42	2,70
17,0	1	-	1,66	-	-	2,65	2,98

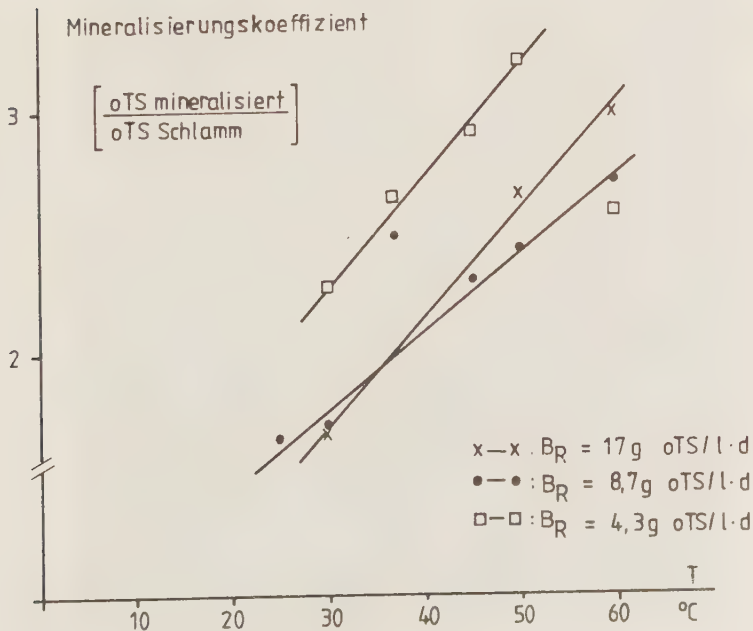


Abb. 15: Abhängigkeit des Mineralisierungskoeffizienten von
Betriebstemperatur und Raumbelastung

3.2.1.7. Absetzverhalten des Belebtschlammes

Da jeweils nur relativ geringe Probevolumina (Arbeitsvolumen der Fermenter 2-3 l) zur Verfügung standen, wurden die Untersuchungen nicht entsprechend DEV zur Wasseruntersuchung in 1 l-Absetztrichtern durchgeführt, sondern auf eine optische Begutachtung des Absetzverhalten von Schlammproben in 100 ml -Glaszylindern beschränkt. Das Absetzverhalten der Belebtschlämme aus unseren Laboranlagen war zwar generell als sehr schlecht zu bezeichnen. Während jedoch im Ablauf mesophiler Reaktoren zumindest nach mehrstündigen Absetzzeiten eine Phasentrennung in Sediment und Überstand sichtbar war- wobei allerdings der Überstand immer noch sehr starke Trübung aufwies, sedimentierte der Ablauf hoch mesophiler (45°C) und thermophiler Reaktoren überhaupt nicht.

Das schlechte Sedimentationsverhalten besonders der thermophilen Belebtschlämme stimmt mit der Schlammbeschaffenheit in den entsprechenden Reaktoren überein.

Größere Belebtschlammflocken, wie sie bei niedrigen Reaktortemperaturen z.T. schon makroskopisch sichtbar sind, bilden sich bei thermophilen Temperaturen nicht.

Mikroskopische Aufnahmen des Belebtschlammes bestätigen diese Aussage (Abb. 16). Größere Aggregate aus einer Vielzahl verschiedener Bakterienformen (darunter auch fädige und verzweigte) und z.T. auch Ciliaten und Flagellaten finden sich nur bei niedrigen Reaktortemperaturen. Die mikroskopisch festzustellende Formenvielfalt der Schlammflora wird mit zunehmender Betriebstemperatur deutlich geringer.

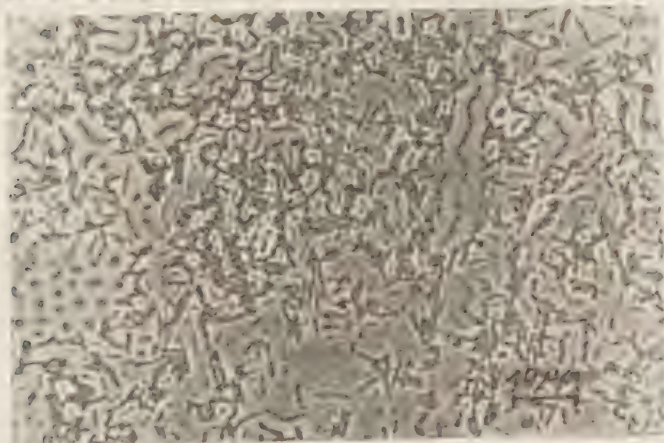
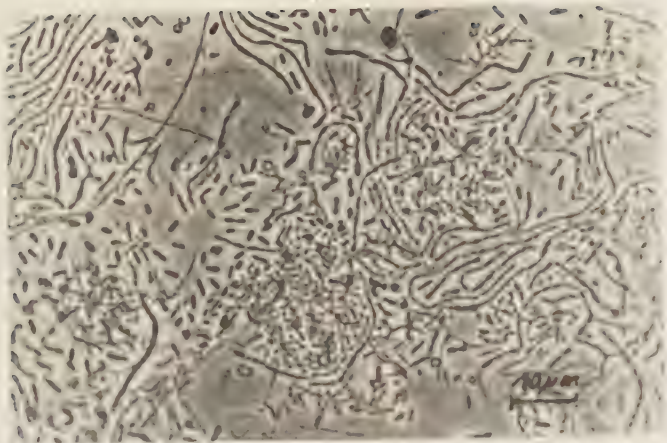


Abb. 16: Phasenkontrastmikroskopische Aufnahmen von Belebtschlamm aus den 30°C-, 45°C und 60°C- Anlagen (von oben nach unten)

3.2.1.8. pH- Wert

Der pH- Wert des frischen Hefeabwassers liegt bei etwa 5,0. Durch die aerobe Behandlung wird der pH- Wert -abhängig von der Betriebstemperatur der Reaktoren- auf Werte von 8,4 - 8,9 angehoben (Tab. 12).

Tab. 12: Temperaturabhängigkeit des pH- Wertes der Reaktor-
abläufe (Betriebsparameter: $B_R = 8,7 \text{ g oTS/lxd}$;
 $t_R = 1 \text{ d}$)

T_R (°C)	pH-Wert
17	8,4
25	8,5
30	8,5
37	8,7
45	8,8
50	8,9
60	8,9

3.2.2. Behandlung kommunaler Klärschlämme

Die in den folgenden Untersuchungen eingesetzten Substrate -sowohl Primär- als auch Sekundärschlamm- sind in Tab. 13 an Hand der wichtigsten Summenparameter charakterisiert.

Tab.13: Summenparameter der verwendeten Klärschlämme

	Primärschlamm	Sekundärschlamm
CSB (g O ₂ /l)	54,2	60,0
BSB ₅ (g O ₂ /l)	16,6	22,1
TS (g/l)	44,3	39,7
oTS (g/l)	30,5	31,5
(% von TS)	69	79
Kjeldahl - N (g N/l)	2,6	3,4
NH ₄ ⁺ -N (g N/l)	0,3	0,5
Protein (g/l)	14,0	19,1
Fett (g/l)	6,3	5,7

Alle Abbauprobversuche mit Klärschlamm wurden in halbkontinuierlich betriebenen Laboranlagen durchgeführt, in denen an die jeweiligen Temperaturbedingungen adaptierte Mikrofloren vorlagen. Um nicht in den Bereich substratlimitierter Bedingungen zu kommen, unter denen sich die Abbaugeschwindigkeiten bei verschiedenen Temperaturen einander angleichen, wurden die Anlagen bei für den Prozess der aeroben Schlammbehandlung relativ kurzen Retentionszeiten ($t_R = 2,5 - 3d$) und entsprechend hohen Raumbelastungen betrieben ($B_R = 10 - 12g \text{ oTS/lxd}$). Zusätzlich wurden Anlagen untersucht, die mit längerer Retentionszeit ($t_R = 5 d$) und entsprechend niedrigerer Raumbelastung ($B_R = 6 g \text{ oTS/lxd}$) betrieben wurden.

Letztere entsprechen in etwa den Bemessungswerten von Praxisanlagen zur aerob- thermophilen Schlammstabilisierung ($t_R = 5 - 7$ d; $B_R = 4 - 5$ g oTS/lxd; Loll, 1984).

3.2.2.1. Sauerstoffzehrung halbkontinuierlich betriebener Reaktoren

Bei allen Untersuchungen zur Temperaturabhängigkeit der Abbauleistung wurden Belüftung und Umwälzung der Reaktoren so eingestellt, daß ein möglichst hoher O_2 -Sättigungsgrad im Substrat erreicht wird; damit sollte sichergestellt werden, daß Unterschiede in der Abbauleistung der einzelnen Anlagen nicht durch Sauerstofflimitierung bedingt sind. Der Sauerstoffgehalt bei Vollsättigung liegt für 30°C bei etwa 7,5 mg O_2 /l und für 60°C knapp unter 5 mg O_2 /l. Entsprechend der halbkontinuierlichen Betriebsweise der Reaktoren ist der Sauerstoffgehalt im Substrat innerhalb eines Zulaufintervalles nicht konstant, sondern schwankt entsprechend dem zeitlichen Verlauf der Stoffwechselaktivität in den Reaktoren. Abb. 17 zeigt diesen zeitlichen Verlauf der O_2 -Sättigung im Substrat am Beispiel der hochbelasteten, mit Sekundärschlamm betriebenen Reaktoren. Unmittelbar nach Zugabe von Rohschlamm steigt der Sauerstoffverbrauch der Bakterienpopulationen in den Reaktoren stark an.

Im 30°C- Reaktor übersteigt die Sauerstoffzehrung etwa 30 Minuten lang den Sauerstoff- Eintrag; der O_2 - Gehalt sinkt in dieser Zeit auf etwa 10%-Sättigung. Etwa 1 Stunde nach Zulauf ist bereits wieder ein Sättigungsgrad von 60% erreicht, danach steigt der O_2 - Gehalt allmählich auf knapp 90% Sättigung. Da die O_2 -Löslichkeit bei hohen Temperaturen geringer ist, führt die Erhöhung der O_2 - Zehrung nach Zugabe von Rohschlamm im 60°C Reaktor zu einem längeren Sauerstoffdefizit. Etwa eine Stunde lang ist kein freier Sauerstoff im Substrat vorhanden. Erst ca. 1,5 Stunden nach Schlammzugabe steigt der O_2 - Gehalt im Reaktor wieder und nähert sich schneller als bei 30°C- dem Maximalwert an (Abb. 17).

In beiden Reaktoren erreicht der O_2 - Gehalt zu Ende eines Fütterungsintervalls rund 80 - 90% des jeweiligen Sättigungswertes. Bezogen auf die Gesamtdauer eines Zulaufintervalls macht die Zeitdauer der O_2 - Unterversorgung nur etwa 10% aus. Das kurzfristige O_2 -Defizit dürfte sicher keinen signifikanten Einfluß auf den Gesamtabbau der Anlagen haben.

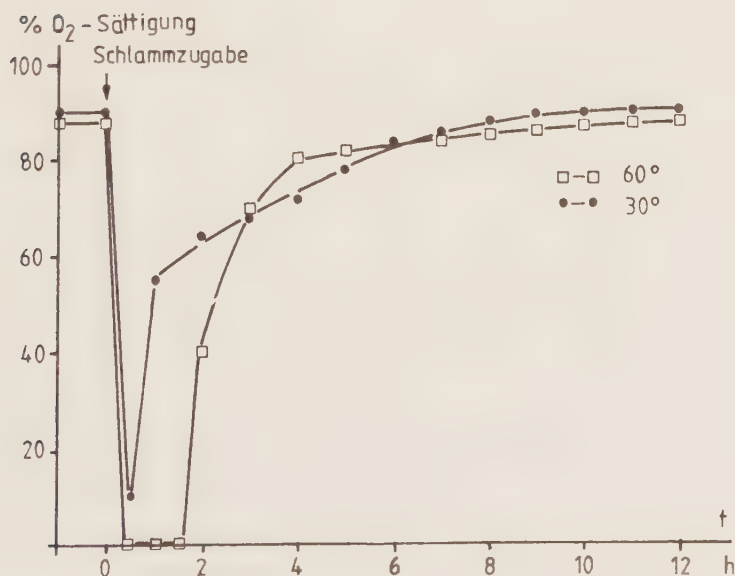


Abb. 17: Verlauf der O_2 -Sättigung in den Reaktoren in einem Zulaufintervall; Substrat: Sekundärschlamm
 $B_R = 12 \text{ g oTS/lxd}$; $t_R = 2,5 \text{ d}$

3.2.2.2. Temperaturabhängigkeit der Mineralisierung von Primärschlamm

Die Temperaturabhängigkeit der Mineralisierung von Primärschlamm wurde im Bereich von 25 - 55°C untersucht (Tab. 14). Die Anlagen wurden mit einer Raumbelastung von 10,2 g oTS/lxd bei einer Retentionszeit von 3 Tagen betrieben; Substrataustausch erfolgte einmal pro Tag.

Tab. 14: CSB- und oTS- Belastung in Zu- und Ablauf mesophiler und thermophiler Reaktoren

Substrat: Primärschlamm; $B_R = 10,2 \text{ g oTS/lxd}$; $t_R = 3 \text{ d}$

T_R (°C)	Rohschlamm		Reaktorablauf			
	CSB (gO ₂ /l)	oTS (g/l)	CSB (gO ₂ /l)	% ¹	oTS (g/l)	% ¹
25	54,2	30,5	38,6	71	24,8	81
37	"	"	32,8	61	21,2	70
50	"	"	31,2	58	20,1	66
55	"	"	30,1	55	19,4	64

1) bezogen auf die Zulaufbelastung

Mit steigender Betriebstemperatur sinkt die Restbelastung im Anlagenablauf zunächst deutlich ab. Temperaturerhöhungen über den hoch mesophilen Temperaturbereich von 40-45°C hinaus vermögen die Ablaufbelastung dagegen kaum noch weiter zu reduzieren (Abb. 18).

Unabhängig von der Reaktortemperatur ergeben sich unterschiedliche Abbaugrade bezüglich CSB und oTS: gegenüber der oTS- Reduktion wurde durchwegs eine etwa 10%- Punkte höhere CSB- Reduktion ermittelt.

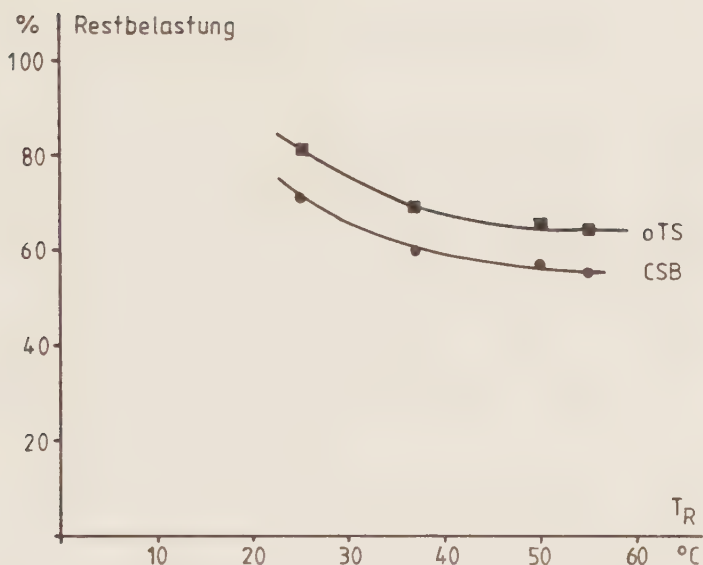


Abb. 18: oTS- und CSB- Restbelastung im Reaktorablauf
 $B_R = 10,2 \text{ g oTS/lxd}$; $t_R = 3 \text{ d}$

Eine Hauptkomponente der organischen Substanz des Primärschlammes ist Protein; diese Stoffklasse macht etwa 45% der organischen Substanz dieses Substrates aus.

Wie Tab. 15 und Abb. 19 zeigen, wird Protein mit Erhöhung der Betriebstemperatur besser abgebaut.

Tab. 15: Abbau von Protein in Abhängigkeit von der Temperatur
 Proteingehalt des Rohschlammes: 14,0 g/l

T_R (°C)	25	37	50	55
Proteingehalt (g/l)	13,3	10,2	8,1	7,7
% des Proteingehaltes im Rohschlamm	95	73	48	55

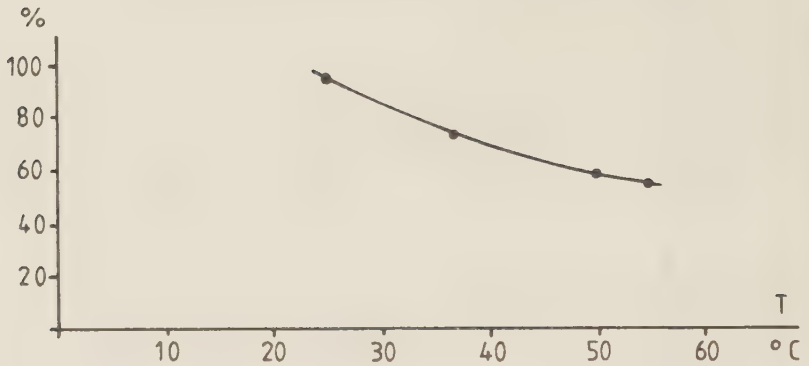


Abb. 19: Protein im Ablauf der Reaktoren bezogen auf den Gehalt des Zulaufs = 14 g/l

Gemessen an dem Abbau der Gesamt- oTS des Schlammes wird diese Stoffklasse bei niedrigen Temperaturen deutlich schlechter abgebaut (vgl. Tab. 14). Im 37°C- Reaktor entspricht der Proteinabbau etwa dem Abbau der Gesamt- oTS, während bei thermophilen Temperaturen Protein deutlich besser abgebaut wird, als es dem Abbau der Gesamt- oTS entspricht.

3.2.2.3. Mineralisierung von Sekundärschlamm bei 30°C und 60°C

In je einer mesophilen (30°C) und thermophilen Anlage (60°C) wurde die Mineralisierung von Sekundärschlamm bei den Belastungszuständen von $B_R = 12 \text{ g oTS/lxd}$ ($t_R = 2,5 \text{ d}$) und 6 g oTS/lxd ($t_R = 5 \text{ d}$) untersucht. Die Zugabe von Rohschlamm in die Reaktoren (Arbeitsvolumen: 2,5 l) erfolgte bei den hochbelasteten Anlagen 2 x täglich (je 0,5 l), bei den niederbelasteten Anlagen 1 x täglich (0,5 l).

CSB- und oTS - Abbau

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tab. 16 zusammengefaßt.

Bereits die 2,5-tägige, intensive aerobe Behandlung des Sekundärschlammes bei 30°C reduziert die CSB und oTS- Belastung dieses Substrates auf etwa 60 bzw. 70% der ursprünglichen Belastung. Die Restbelastung im Ablauf der 60°C- Anlage liegt jeweils knapp 10%-Punkte unter der der 30°C- Anlage. Gemessen an dem großen Unterschied in der Betriebstemperatur von immerhin 30°C sind also die erzielten Unterschiede der Abbauleistung der meso- und thermophilen Anlagen äußerst gering.

Auch die Steigerung der Abbauleistung, die aus einer Verdopplung der Retentionszeit auf 5 d resultiert, ist relativ gering. Die CSB- und oTS- Restbelastung im Anlagenablauf sinkt durch diese Maßnahme -unabhängig von der Reaktor- temperatur- nur um etwa 10% gegenüber den entsprechenden hochbelasteten Anlagen.

Tab. 16 : Mineralisierung von Sekundärschlamm bei meso- und thermophilen Temperaturen und unterschiedlichen Raumbelastungen

Betriebsbedingungen			Rohschlamm		Reaktorablauf			
T_R (°C)	B_R (gTS/lxd)	t_R (d)	CSB (g O ₂ /l)	oTS (g/l)	CSB ¹ (gO ₂ /l)	(%) ²	oTS ¹ (g/l)	(%) ²
30	12,6	2,5	60,8	31,5	37,4	62	21,8	69
60	12,6	2,5	60,8	31,5	32,7	54	19,4	62
30	6,1	5	58,2	30,3	32,4	56	19,4	64
60	6,1	5	58,2	30,3	27,6	47	17,1	56

1) arithmetische Mittel; $n \approx 30$

2) bezogen auf die Belastung des Zulaufes

Protein- und Fett- Abbau

Um die unterschiedlichen Abbauleistungen meso- und thermophiler Anlagen differenzierter beurteilen zu können, als es die Summenparameter CSB und oTS zulassen, wurde der Gehalt an Protein und Fett, den beiden wichtigsten Stoffklassen der organischen Substanz von Klärschlämmen, analysiert. Mit einem für Sekundärschlamm typisch hohen Anteil von rund 60% der oTS ist Protein die Hauptkomponente der oTS des Schlammes. Der Anteil der Fette an der GesamtoTS beträgt etwa 20%.

Entsprechend den Ergebnissen der Untersuchungen an Primärschlamm ist -unabhängig von der Belastung- der Proteingehalt im Ablauf thermophiler Anlagen deutlich geringer als bei mesophilen Anlagen. Dabei wird bei 60°C Protein wiederum besser abgebaut, als die oTS des Schlammes insgesamt (Tab. 17).

Tab. 17: Proteinabbau in Abhängigkeit von Betriebstemperatur und Raumbelastung

		Proteingehalt				
B_R (g oTS/lxd)	t_R (g/l)	Rohschlamm (g/l)	Ablauf 30°C (g/l)	(%) ¹	Ablauf 60°C (g/l)	(%) ¹
12	2,5	19,1	14,5	76	10,8	56
6	5	15,1	11,3	62	8,3	46

1)bezogen auf den Proteingehalt des Zulaufs

Die am leichtesten abbaubare Stoffklasse der organischen Substanz sind offenbar die Fette. Sowohl bei mesophilen als auch thermophilen Temperaturen ergeben sich Abbauraten, die bei beiden Belastungszuständen weit über denen der Gesamt- oTS liegen (Tab. 18).

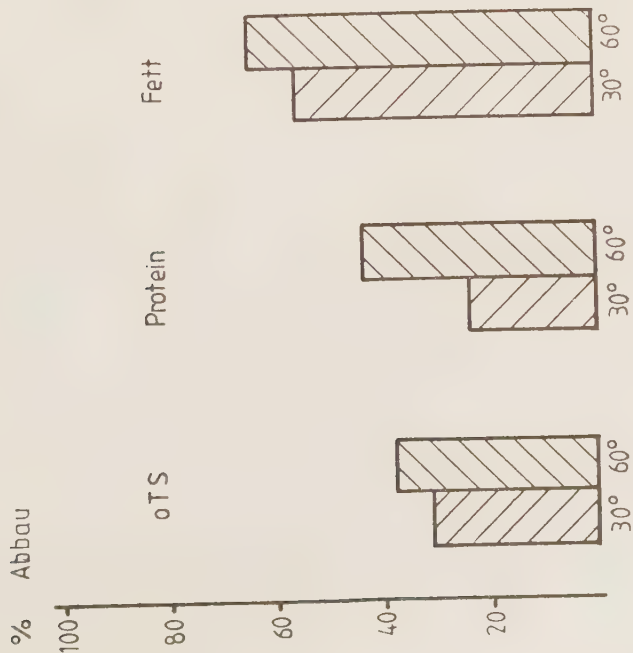
Wie beim Proteinabbau wirken sich hohe Temperaturen zusätzlich noch deutlich fördernd auf den Fettabbau aus. Das unterschiedliche Abbauverhalten von Gesamt- oTS, Protein und Fett bei meso- und thermophilen Temperaturen ist in Abb. 20 graphisch zusammengefaßt.

Tab. 18: Fettabbau in Abhängigkeit von Betriebstemperatur und Raumbelastung

		Fettgehalt				
B_R (g oTS/lxd)	t_R (d)	Rohschlamm (g/l)	Ablauf (g/l)	30°C (%) ¹	Ablauf (g/l)	60°C (%) ¹
12	2,5	5,7	2,5	44	2,0	35
6	5	5,4	2,3	40	1,0	28

1) bezogen auf den Fettgehalt des Rohschlammes

$B_R = 12 \text{ g oTS/l} \cdot \text{d}$
 $t_R = 2,5 \text{ d}$



$B_R = 6 \text{ g oTS/l} \cdot \text{d}$
 $t_R = 5 \text{ d}$

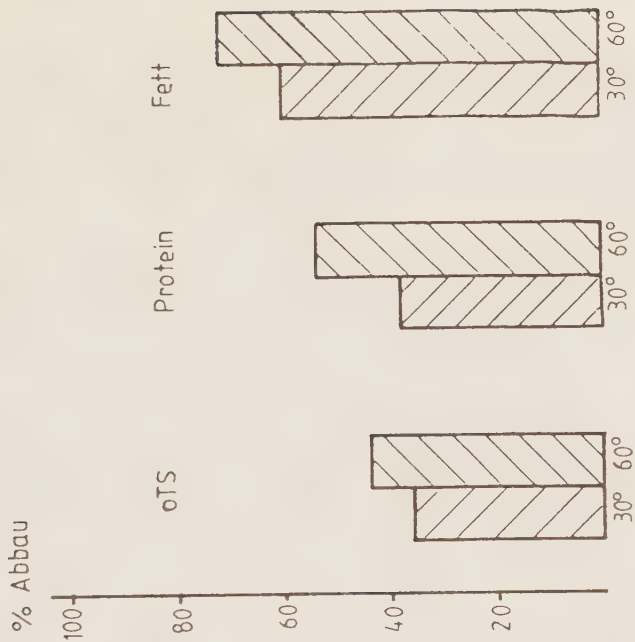


Abb. 20: Abbau von Gesamt- oTS, sowie von Protein und Fett in Abhängigkeit von Temperatur und Raumbelastung der Anlagen

Stickstoffbilanz

Für die niedrig belasteten Anlagen zeigt Tab. 19 eine Gesamtbilanz des Stickstoffgehaltes.

Tab. 19: Aufteilung der Stickstoff- Verbindungen im Rohschlamm und im Ablauf meso- und thermophiler Reaktoren

	Rohschlamm	30°C	60°C
org.N (mg N/l)	2890	1810	1320
$\text{NH}_3/\text{NH}_4^+ \text{-N}$ "	480	170	330
$\text{NO}_3^- \text{-N}$ "	0	770	0
Gesamt-N "	3370	2750	1650

Die Daten lassen einen grundlegenden Unterschied in der Stoffwechselleistung meso- und thermophiler Bakterienpopulationen erkennen. Ein großer Teil des beim Abbau der organischen Stickstoff- Verbindungen freigesetzten $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ - Stickstoffes wird im mesophilen Reaktor durch nitrifizierende Mikroorganismen zu NO_3^- oxidiert. Die thermophile Population ist dazu nicht in der Lage. Dies führt in der Gesamt-Stickstoff-Bilanz des Schlammes dazu, daß bei 30°C über 80% des Stickstoffgehaltes des Rohschlammes im Reaktorablauf erhalten bleibt. Dagegen wird im thermophilen Reaktor durch intensive Belüftung bei hoher Temperatur und alkalischem pH- Wert (siehe Abschnitt 3.2.2.4.) offensichtlich NH_3 ausgetragen, was zu einem rund 50%-igen N-Verlust führt.

Die Tatsache, daß im 30°C- Reaktor Nitrifikation auftritt, ist auf den ersten Blick ziemlich überraschend.

Praxisanlagen zur Abwasserreinigung mit gleichzeitiger Nitrifikation werden nämlich lediglich auf eine Raumbelastung von $B_R = 0,5 \text{ g BSB}_5/\text{lxd}$ hin bemessen (Imhoff, 1979). Dagegen liegt die BSB_5 - Raumbelastung unseres Laborreaktors bei etwa $3,6 \text{ g BSB}_5/\text{lxd}$ und damit bei weitem jenseits des Bereiches, in dem Nitrifikation zu erwarten wäre. Der entscheidende Parameter, ob in einer Anlage Nitrifikation auftritt oder nicht, ist jedoch nicht allein die Raumbelastung B_R sondern die Schlammbelastung B_{TS} , also der Quotient aus Raumbelastung und Schlammgehalt einer Anlage. Unter der Annahme, daß der TS- Gehalt unseres 30°C -Reaktors (ca. $27,4 \text{ g/l}$) praktisch mit dem Schlammgehalt identisch ist -diese Annahme ist erlaubt, da die Anlage mit Sekundärschlamm betrieben wird- so ergibt sich auf Grund eben dieses hohen TS- Gehaltes eine geringe Schlammbelastung von etwa $0,13 \text{ g BSB}_5/\text{g TSxd}$. Damit liegt dieser Reaktor zur Schlammstabilisierung trotz hoher Raumbelastung exakt in einem Bereich der Schlammbelastung von $0,15 \text{ g /gxd}$, der in der Praxis als Bemessungswert für nitrifizierende Anlagen herangezogen wird (Imhoff, 1979).

3.2.2.4. pH- Wert

Für eine relativ schnelle Hygienisierung des Klärschlammes während der aeroben Stabilisierung ist neben der Temperatur auch der pH- Wert des Schlammes von großer Bedeutung (Strauch et al., 1970). Auch als "Stabilisierungskriterium" für Praxisanlagen wird dieser Parameter diskutiert: Breitenbücher (1983) stellt in seinen Untersuchungen einen Zusammenhang zwischen hohem pH- Wert und gutem Stabilisierungsgrad her. Für beide untersuchten Schlammarten zeigt sich in unseren Versuchen eine deutliche Temperaturabhängigkeit des pH- Wertes (Tab. 20). Nur bei hoch mesophilen und thermophilen Temperaturen werden pH- Werte von $8,5 - 9,0$ erreicht, die sich im Zusammenspiel mit der hohen Reaktortemperatur positiv auf eine rasche Abtötung pathogener Keime auswirken können.

Tab. 20: pH- Wert des Reaktorinhaltes in Abhängigkeit von der Betriebstemperatur und verschiedenen Substrat- und Belastungsbedingungen

T_R °C	25	30	37	50	55	60
B_R : 10 g oTS/lxd ¹	7,0	-	8,9	8,9	9,0	-
B_R : 12 g oTS/lxd ²	-	7,0	-	-	-	8,9
B_R : 6 g oTS/lxd ²	-	6,2	-	-	-	8,5

1) Substrat: Primärschlamm (pH = 5,9)

2) Substrat: Sekundärschlamm (pH = 6,5)

Die pH- Werte der bei niedrigen Temperaturen betriebenen Reaktoren liegen im neutralen bis leicht sauren Bereich. Dies erklärt sich einerseits aus einer höheren Löslichkeit von CO_2 bei niedrigen Temperaturen, andererseits aus der Tatsache, daß bei 30°C Nitrifikation stattfindet, die entsprechend der Oxidationsgleichung $NH_4^+ + 2O_2 \rightarrow NO_3^- + H_2O + 2H^+$ zur Freisetzung von Protonen und einer entsprechenden pH- Absenkung führt.

Nach unseren Ergebnissen ist der pH- Wert nur bedingt als Stabilisierungskriterium geeignet, da ein hoher pH- Wert des behandelten Schlammes nicht unbedingt auf ein niedriges BSB_5 : CSB - Verhältnis schließen läßt. Umgekehrt erwies sich der Ablauf des 30°C -Reaktors mit einem pH- Wert von nur 6,2 als "vollstabilisiert" (siehe unten).

3.2.2.5. Stabilisierungsgrad

Hauptziel einer Schlammbehandlung ist die Stabilisierung, d.h. die Überführung in ein relativ inertes Endprodukt mit möglichst geringer biologischer Restaktivität.

Das in der Abwassertechnologie gebräuchlichste Kriterium zur Beschreibung des Stabilisierungsgrades ist das Verhältnis von BSB_5 : CSB des Schlammes. Je kleiner dieser Quotient im behandelten Schlamm ist, desto geringer ist die Neigung des Schlammes, durch sauerstoffzehrende Stoffwechselprozesse nach der aeroben Behandlung wieder in Fäulnis überzugehen. Das BSB_5 : CSB- Verhältnis liegt für Rohschlämme in der Regel bei $\geq 0,3$. Als "vollstabilisiert" gilt ein Schlamm bei einem BSB_5 : CSB- Verhältnis unter 0,15 (Loll, 1984).

Tab. 21 zeigt eine Gegenüberstellung der BSB_5 - und der CSB- Werte der Reaktorabläufe.

Tab. 21: Verhältnis von CSB und BSB_5 der Reaktorabläufe nach meso- und thermophiler Behandlung

T_R °C	25 ¹	30 ²	37 ¹	50 ¹	55 ¹	60 ²
CSB g O_2 /l	38,6	34,2	32,8	31,2	30,20	28,6
BSB_5 g O_2 /l	7,7	3,6	4,4	5,8	5,8	7,1
BSB_5 : CSB	0,20	0,11	0,13	0,19	0,19	0,25

1) Substrat: Primärschlamm; $B_R = 10$ g oTS/lxd, $t_R = 3d$

2) Substrat: Sekundärschlamm; $B_R = 6$ g oTS/lxd, $t_R = 5d$

In den mit Primärschlamm betriebenen Reaktoren bewirkt der Temperaturübergang von 25°C auf 37°C eine deutliche Verringerung des BSB_5 - Gehaltes im Ablauf. Dies ist entsprechend der Temperaturabhängigkeit von CSB- und oTS- Abbau auch nicht

anders zu erwarten (siehe Abb. 18). Während jedoch für CSB und oTS auch im thermophilen Temperaturbereich noch geringe Steigerungen der Abbauraten ermittelt wurden, geht der BSB_5 -Abbau bei hohen Temperaturen wieder deutlich zurück. Der gleiche Sachverhalt zeigt sich in den mit Sekundärschlamm betriebenen Reaktoren (siehe Tab. 16): trotz geringeren CSB- und oTS- Gehaltes im Ablauf der thermophilen Reaktoren ist der BSB_5 - Gehalt gegenüber den mesophilen Reaktoren deutlich höher. Damit ergeben sich beim Übergang von mesophilen (30°C) zu thermophilen Betriebstemperaturen immer ungünstigere BSB_5 : CSB- Verhältnisse (Tab.21). Die Temperaturabhängigkeit dieses Stabilisierungskennwertes ist in Abb. 21 graphisch dargestellt.

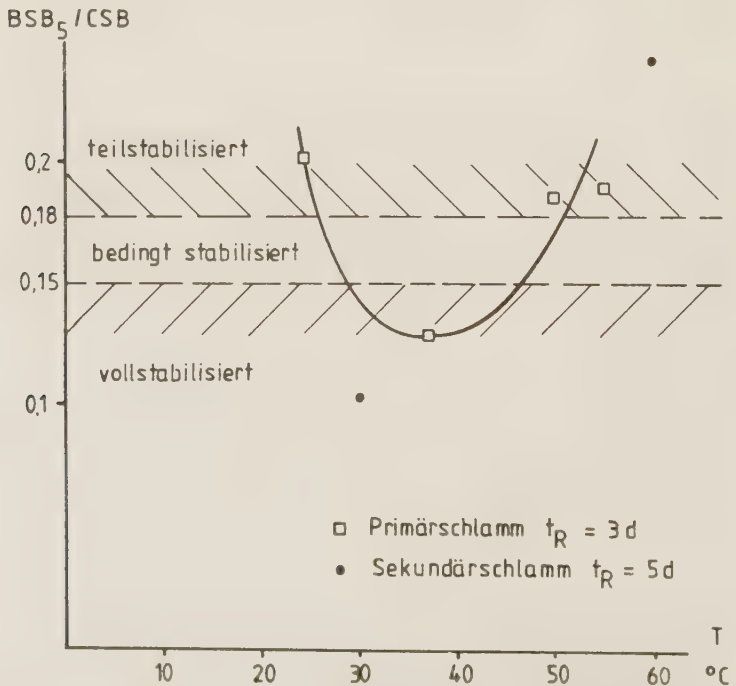


Abb. 21: Temperaturabhängigkeit des Stabilisierungsgrades;
Abstufung nach Loll (1984)

Bei den gegebenen Behandlungszeiten der Schlämme in den Reaktoren (Primärschlamm: 3 d ; Sekundärschlamm: 5 d) führt nur die mesophile Behandlung im Bereich von etwa 30-45°C zu einem vollstabilisierten Endprodukt mit einem BSB_5 :CSB- Verhältnis unter 0,15.

Im Zusammenhang mit der Bestimmung des BSB_5 der Schlammproben aus dem 60°C- Reaktor ist auf eine Problematik hinzuweisen, deren Mißachtung in der Praxis zu einer bei weitem zu günstigen Bewertung des Stabilisierungsgrades thermophiler Schlämme führen kann. Unter den Temperaturbedingungen einer BSB- Bestimmung ($T = 20^\circ\text{C}$) kommt die Stoffwechselaktivität der an thermophile Betriebstemperaturen adaptierten Mikroflora aus dem 60°C- Reaktor weitgehend zum Erliegen. Die entsprechend geringe O_2 -Zehrung während der BSB_5 - Bestimmung bei 20°C würde einen zu guten Stabilisierungsgrad des Schlammes vortäuschen.

Dieser Sachverhalt ist in Abb. 22 an Hand der BSB_5 - Bestimmung in den einzelnen Proben aus dem 60°C-Reaktor dargestellt. Bei den Schlammproben (Nr. 1-6 in Abb. 22) handelt es sich jeweils um Mischproben über mehrere Tage; die Proben waren jeweils bis zur Analyse eingefroren. Die Proben, die mit Ausnahme von Probe 2 und 3 praktisch identische CSB-Werte aufweisen, wurden nacheinander einer BSB_5 - Bestimmung unterzogen.

Probe 1 wurde mit Belebtschlamm aus einer bei 20°C mit Hefewasser betriebenen Belebungsanlage angeimpft; alle weiteren BSB_5 - Ansätze wurden jeweils mit Schlamm der vorhergehenden Bestimmung angeimpft. Als Folge dieser Maßnahme steigt der ermittelte BSB_5 -Gehalt der Proben während der ersten 3 Passagen deutlich an. Daß dieser Anstieg nicht allein durch den höheren CSB- Gehalt der Proben 2 und 3 bedingt ist, zeigt sich im Verhältnis BSB_5 : CSB dieser Proben, das von etwa 0,1 auf 0,2 ansteigt. Innerhalb von 3 BSB_5 - Passagen hat demnach eine Adaptation des "BSB-Schlammes" stattgefunden, mit dem Ergebnis, daß während einer BSB_5 - Bestimmung nun rund 20% des CSB der Proben

biologisch abgebaut werden- gegenüber nur 10% bei der 1. Probe. Obwohl alle folgenden Proben geringeren CSB- Gehalt aufweisen als Probe 3, bleibt der BSB_5 - Gehalt etwa auf gleichem Niveau von etwa 25%, entsprechend einem BSB_5 : CSB- Verhältnis von 0,25. Bei der Wiederholung der BSB_5 - Bestimmung der Probe 1', die eine Rückstellprobe von Schlammprobe 1 darstellt, zeigt diese auf Grund der Animpfung mit adaptiertem Impfschlamm aus der 6. BSB_5 -Passage nun einen gegenüber der ursprünglichen Bestimmung um den Faktor 3 höheren BSB_5 - Gehalt.

Derartige Adaptationsphänomene, wie sie sich bei den thermophil behandelten Schlammproben ergaben, wurden weder bei Rohschlamm noch bei mesophil behandeltem Schlamm beobachtet. Aussagekräftige Untersuchungen über den tatsächlichen BSB_5 - Gehalt thermophil behandelter Schlämme setzen demnach trotz des hohen Eigengehaltes an Mikroorganismen eine Animpfung der Proben voraus. Als Impfmateriel sind dabei Schlämme zu verwenden, die sowohl an die Temperaturverhältnisse (20°C) als auch an die Substratbedingungen der BSB_5 - Bestimmung optimal adaptiert sind. Dies geschieht am einfachsten durch Weiterimpfung von "BSB-Schlamm" von einer Bestimmung auf die folgende; die Eigenzehrung des Impfmateriels ist zu testen.

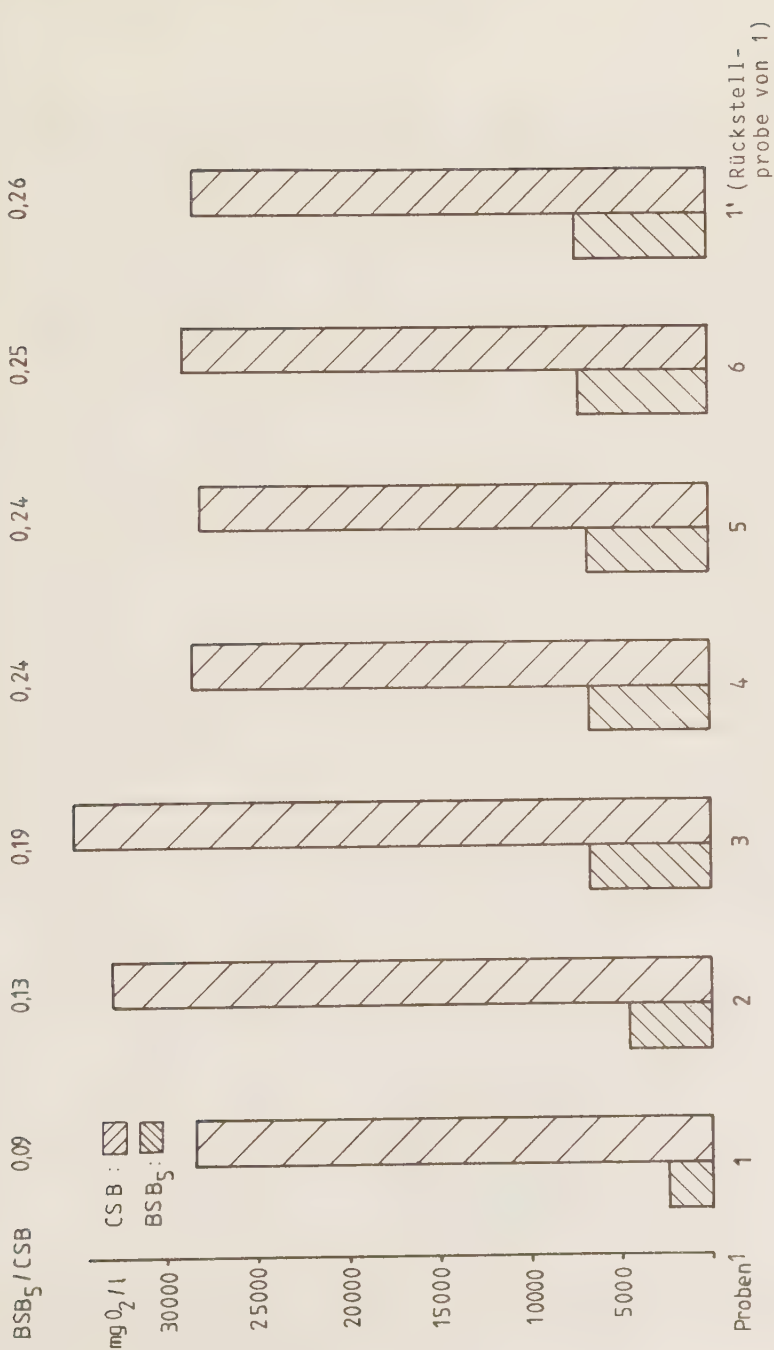


Abb. 22: Anstieg des BSB₅- Gehaltes thermophiler Schlämme auf Grund der Verwendung von Impfmateri-
al, das an die Temperatur- und Substratverhältnisse der BSB₅-Bestimmung adaptiert ist

1) Mischproben über mehrere Tage aus dem 60°C- Reaktor; eingefrorene Proben;

3.2.2.6. Absetz- und Entwässerungsverhalten, Geruch und Lagerfähigkeit

Für Schlammstabilisierungsanlagen ist das Absetz- bzw. Entwässerungsverhalten des behandelten Schlammes ein wesentlicher betriebstechnischer und finanzieller Faktor. Es hat entscheidenden Einfluß auf die technische Handhabbarkeit des stabilisierten Schlammes (z.B. in Nacheindickern und Stapelbehältern) und auf Lager- bzw. Transportkosten bei der Endverwertung des eingedickten Schlammes.

Das Absetzverhalten der Reaktorabläufe (Substrat: Sekundärschlamm; B_R : 6 g oTS/lxd) wurde bei Raumtemperatur in 200 ml-Bechergläsern beobachtet; zur Beurteilung des Entwässerungsverhaltens wurde Menge und CSB- Belastung des Filterdurchlaufes von 100 ml-Schlammproben über Papierfilter bestimmt. Wenn auch die Versuchsergebnisse aufgrund äußerer Versuchsbedingungen (Einfrieren/Auftauen des Rohschlammes; relativ kleine Probekolumina) keine direkte Übertragung in Praxisverhältnisse zulassen, so sind doch tendenzielle Aussagen möglich, da sich sehr deutliche relative Unterschiede zwischen mesophil und thermophil behandelten Schlämmen ergaben.

Die optische Charakteristik einer 24-Stunden- Absetzprobe ist in Abb. 23 skizziert.

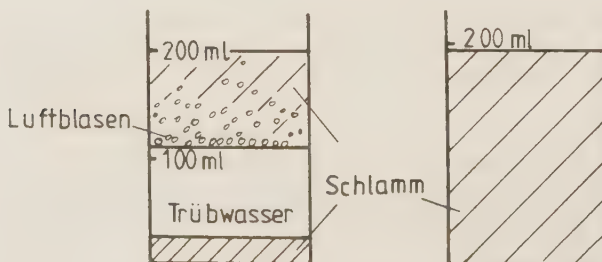


Abb. 23: 24-Stunden Absetzprobe von Klärschlamm nach mesophiler (links) und thermophiler (rechts) Behandlung

In der Schlammprobe aus dem 60°C- Reaktor ist nach 24 Stunden Absetzzeit keine Sedimentation oder Phasentrennung festzustellen. Die ursprüngliche, cremige Konsistenz bleibt erhalten, größere Schlamm-Aggregate werden nicht gebildet. Die Schlammprobe bleibt während dieser Zeit vollkommen homogen, es erfolgt keinerlei Austritt von Trübwasser. Dagegen ergibt sich im 30°C- Ablauf nach 24 Stunden eine eindeutige Phasentrennung von Schlamm und Trübwasser. Ein Teil des Schlammes sedimentiert sehr gut, die Hauptmenge bildet jedoch eine kompakte, aufschwimmende Schlammdecke als Folge der Schaumbildung im Reaktor und entsprechendem Schlamm-auftrieb durch eine Vielzahl von Gaseinschlüssen. Eine Beseitigung dieser Gasblasen (z.B. durch gelegentliches Rühren) führt zu einer raschen Sedimentation großer Schlammflocken aus der Schwimmdecke.

Das Entwässerungsverhalten der behandelten Schlämme bestätigt die Aussage über das Absetzverhalten. Bei der Entwässerung über Faltenfilter wird das sogenannte "freie Zwischenraumwasser" erfaßt, das von der Schlammprobe leicht abgegeben werden kann.

Das Filtratvolumen nach 0,5 Stunden ist ein Maß für die maximale Entwässerungsgeschwindigkeit; das Filtratvolumen nach 24 Stunden repräsentiert ungefähr die Gesamtmenge des freien Zwischenraumwassers der Schlammprobe.

Tab. 22 faßt die Untersuchungen zum Entwässerungsverhalten des meso- bzw. thermophil behandelten Schlammes zusammen.

Tab. 22: Filtratvolumen und CSB-Gehalt des Filtratwassers von Schlammproben vor und nach meso- bzw. thermophiler Behandlung (Probenvolumen: 100 ml)

	Zulauf	Ablauf 30°C	Ablauf 60°C
Filtratvolumen nach 0,5 h (ml)	18	24	4
" 1 h	24	32	5
" 2 h	29	39	7
" 24 h	58	64	19
CSB-Gehalt des 24-h Filtrates (g O ₂ /l)	18,9	1,2	4,6

Im Vergleich zum verwendeten Rohschlamm führt die mesophile Stabilisierung zu einer leichten Verbesserung, die thermophile Behandlung dagegen zu einer drastischen Verschlechterung der Entwässerungseigenschaften des Schlammes über Faltenfilter. Das freie Zwischenraumwasser (Filtratvolumen nach 24 h) beträgt beim 60°C- Schlamm nur etwa 20 vol% gegenüber rund 65 vol% im 30°C- Schlamm. Eine Abtrennung dieses Wasseranteils bedeutet immerhin eine Eindickung des mesophil behandelten Schlammes um den Faktor 3 schon innerhalb von 24 Stunden.

Bezüglich der Belastung des Filtratwassers ist der thermophil behandelte Schlamm ebenfalls eindeutig schlechter einzustufen. Der CSB- Gehalt des 30°C- Filtratwassers beträgt 1,2 g O₂/l- das entspricht einer knapp 95%-igen Reduktion gegenüber dem Rohschlamm- Filtrat. Das Filtratwasser des thermophilen Schlammes ist dagegen mit einem CSB von 4,6 g O₂/l fast viermal so hoch belastet wie das Filtrat des mesophilen Schlammes. Im Gegensatz zum vollkommen farblosen Filtratwasser des 30°C- Schlammes ist das Filtrat des 60°C leicht braun gefärbt. Der Schlamm aus dem 30°C- Reaktor

hat einen angenehmen, erdig-frischen Geruch, der Ablauf der 60°C- Anlage riecht dagegen eher unangenehm süßlich.

Nach 10-tägiger Lagerung der Schlammproben bei 20-25°C in einem 500 ml Standzylinder besitzt der mesophil behandelte Schlamm immer noch seine ursprüngliche braune Färbung und den erdig-frischen Geruch. Allmählich einsetzende Fäulnisprozesse machen sich lediglich am Boden des Zylinders durch leichte H_2S - Entwicklung bemerkbar. Der Schlamm reagiert neutral bis schwach sauer; der pH- Wert des Trübwassers liegt bei 7,5.

Der pH- Wert des thermophilen Schlammes sinkt während der Lagerung auf etwa 7,0. Der Geruch bleibt unangenehm süßlich; beim Ausgießen des Schlammes macht sich sehr starker H_2S - Geruch bemerkbar, der Schlamm ist teilweise bereits schwarz gefärbt.

Dieses unterschiedliche Verhalten der beiden Schlämme bei der Lagerung bestätigt also den durchwegs schlechteren Stabilisierungsgrad der thermophil behandelten Schlämme.

3.2.2.7. Aufschluß von Bakterienzellen durch thermophile Schlammbehandlung

Ein Großteil der organischen Substanz von Klärschlamm ist als Bakterienmasse in zellulärer Form festgelegt. Dies gilt in besonderem Maße für den Sekundärschlamm, denn die Reinigungsleistung einer biologischen Abwasserreinigungsstufe beruht ja zu einem wesentlichen Teil auf einer Überführung der ursprünglich im Abwasser gelösten Schmutzstoffe in Bakterienmasse, die als Überschussschlamm aus der biologischen Stufe der Abwasserreinigung abgezogen wird. Die aerobe Stabilisierung dieses Schlammes in einer separaten Verfahrensstufe setzt eine zumindest teilweise Lyse der Bakterienzellen voraus, damit deren Zellbestandteile und -inhaltsstoffe möglichst schnell einer biologischen Oxidation im Stabilisierungsreaktor zur Verfügung stehen.

Um Anhaltspunkt für die Lysegeschwindigkeit während des Stabilisierungsprozesses unter meso- und thermophilen Bedingungen zu erhalten, setzten wir zwei entsprechenden Klärschlammreaktoren *Aquaspirillum peregrinum* als Modellkeim zu und verfolgten mikroskopisch die Abnahme der Zellzahl dieses morphologisch recht charakteristischen Keimes. Diese Untersuchungen wurden als batch-Versuche in 500 ml-Laborfermentern durchgeführt. Dazu wurden Proben (300 ml) aus den halbkontinuierlich betriebenen Versuchsanlagen in die auf 30°C bzw. 60°C thermostatisierten Kleinfermenter umgesetzt. Statt der Tagesration Rohschlamm wurden einmalig 70 ml der Spirillensuspension zugegeben und das Verschwinden der charakteristischen Zellform dieses Bakteriums über die Zeit verfolgt. Wie aus Abb. 24 hervorgeht, sinkt die Zellzahl von *A. peregrinum* bei 30°C nur mit einer dezimalen Reduktionszeit von etwa 21 Tagen, während bei 60°C eine sechsmal schnellere Auflösung des Modellkeimes erfolgt (D_{10} etwa 3,5 d). Dies bedeutet, daß bei thermophiler Klärschlammbehandlung (60°C) innerhalb von 7 Tagen die Zellstruktur von 99% der als Rohschlamm zugeführten Bakterienmasse vollständig aufgelöst wird.

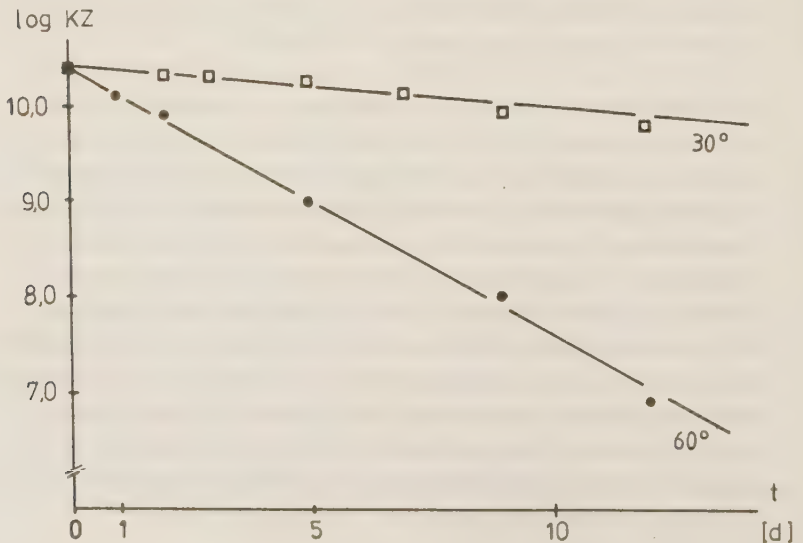


Abb. 24: Abnahme der Zellzahl von *A. peregrinum* DSM 1839 während meso- und thermophiler Schlammbehandlung

3.2.2.8. Klärschlammstabilisierung in einer 2-stufigen Laboranlage

Um zu prüfen, inwieweit die Vorteile der thermophilen Schlammbehandlung (besserer oTS-Abbau, Entseuchung, etc.) mit denen der mesophilen Behandlung (höherer Stabilisierungsgrad, bessere Entwässerungseigenschaft, etc.) verbunden werden können, wurden beide Verfahren in einer 2-stufigen Laboranlage kombiniert. Diese Anlage wurde in der Stufenfolge thermophil/mesophil betrieben, da diese Verfahrensweise auf Grund unserer bisherigen Ergebnisse aus den einstufigen Anlagen einige Vorzüge gegenüber der Alternative mesophil/thermophil aufweisen sollte, wie sie derzeit bei Praxisanlagen zur aerob- thermophilen Schlammstabilisierung realisiert ist.

Die thermophile 1. Stufe sollte demnach einen möglichst weitgehenden Zellaufschluß des Rohschlammes und -auf Grund der hohen Mineralisierungskoeffizienten thermophiler Mikroorganismen- einen effizienten Abbau der oTS bei geringer Schlammproduktion gewährleisten. Von der nachgeschalteten mesophilen Stufe kann eine weitergehende Reduktion der Trübwasserbelastung, eine deutliche Verbesserung des Stabilisierungsgrades sowie eine Verbesserung der Entwässerungseigenschaften des Schlammes erwartet werden.

Um die Abbauleistung dieser Anlage direkt mit den bereits geschilderten Ergebnissen der einstufigen Anlagen vergleichen zu können, wurden Raumbelastung und Retentionszeit der 1. Stufe (60°C) etwa entsprechend den früheren Versuchen an den hochbelasteten Anlagen eingestellt ($B_R = 12 \text{ g oTS/lxd}$; $t_R = 2,5 \text{ d}$); die Retentionszeit in der 2. Stufe (30°C) betrug ebenfalls 2,5 d, so daß die zweistufige Anlage mit einer Gesamt- Retentionszeit von 5 d und einer Gesamt- Raumbelastung von etwa 6 g oTS/lxd direkt mit den entsprechenden niederbelasteten, einstufigen Anlagen zu vergleichen ist. Die an dieser kombinierten Anlage ermittelten Daten werden in Tab. 23 mit den Ergebnissen aus den entsprechenden einstufigen Anlagen verglichen.

Tab. 23: Mineralisierung von Sekundärschlamm in einer zweistufigen Anlage (60°C/30°C) im Vergleich mit den einstufigen, meso- und thermophilen Anlagen

Betriebsbedingungen				Reaktorablauf			
T _R (°C)	B _R (goTS/lxd)	t _R (d)	Reaktorzufluß CSB (g O ₂ /l) (g/l)	CSB ¹ (g O ₂ /l) (%) ²	oTS ¹ (g/l) (%) ²	BSB ₅ (g O ₂ /l)	BSB ₅ CSB
zweistufig							
1.Stufe 60	11,8	2,5	56,0 29,4	29,1 52	17,9 61	5,2	0,18
2.Stufe 30	7,2	2,5	29,1 17,9	24,7 85	15,1 84	-	-
1.+2.Stufe 60/30	5,9	5	56,0 29,4	24,7 44	15,1 51	3,1	0,12
einstufig							
60	12,6	2,5	60,8 31,5	32,7 54	19,4 62	-	-
60	6,1	5	58,2 30,3	27,6 47	17,1 56	6,1	0,22
30	12,6	2,5	60,7 31,5	37,4 62	21,8 69	-	-
30	6,1	2,5	58,2 30,3	32,4 56	19,4 64	3,4	0,11

1) arithmetisches Mittel; n = 9

2) bezogen auf die Zulaufbelastung

Die CSB- und oTS- Restbelastung im Ablauf der 2-stufigen Anlage liegt noch 3 bzw. 5%- Punkte unter der Restbelastung der 1-stufigen 60°C- Anlage mit 5 d Retentionszeit, die ja unter allen 1-stufigen Anlagen den höchsten CSB und oTS- Abbau erbracht hatte. Da die Abbauleistung der thermophilen 1. Stufe der 2-stufigen Anlage im Rahmen der Meßgenauigkeit erwartungsgemäß mit der hoch belasteten, 1-stufigen 60°C- Anlage übereinstimmt, erbringt offensichtlich die Nachbehandlung in der 2. Stufe bei 30°C einen etwas besseren Abbau als eine weitere Behandlung bei 60°C.

Entscheidender als dieser zahlenmäßig geringfügig bessere Abbau ist allerdings der Befund, daß der Stabilisierungsgrad des thermophil behandelten Schlammes durch die mesophile Nachbehandlung deutlich verbessert wird. Mit einem BSB_5 : CSB- Verhältnis von 0,12 ist der Ablauf der zweistufigen Anlage im Gegensatz zum Ablauf der einstufigen 60°C- Anlage mit vergleichbarer Aufenthaltszeit (5 d) als "vollstabilisiert" zu bezeichnen.

Durch die mesophile Nachbehandlung in der 2. Stufe ergeben sich auch im Entwässerungsverhalten des Schlammes sowie hinsichtlich der Belastung und des Bräunungsgrades des Filtratwassers deutliche Verbesserungen gegenüber der thermophilen Behandlung (Tab. 24).

Wenn auch in keiner dieser Eigenschaften die entsprechenden Kenngrößen des rein mesophil behandelten Schlammes erreicht werden, so zeigen die Ergebnisse doch, daß eine 2-stufige, thermophil/mesophile Schlammbehandlung die Nachteile der Thermophilie unter Beibehaltung ihrer Vorteile (schnellerer Zellaufschluß, besserer oTS- Abbau, Entseuchung) weitgehend beseitigen kann.

Tab. 24 : Entwässerungsverhalten und Belastung des Filtratwassers des Schlammes nach zweistufiger Behandlung bei 60°C/30°C im Vergleich mit einstufiger Behandlung bei gleicher Gesamt-Retentionszeit (5 d)

Anlage		Filtratwasser		
Betrieb	T_R (°C)	Volumen ¹ (24h) (ml)	CSB-Gehalt (g/l)	Bräunung (E_{254})
zweistufig	60/30	35	1,7	5,9
einstufig	60	19	4,6	17,3
	30	64	1,2	1,5

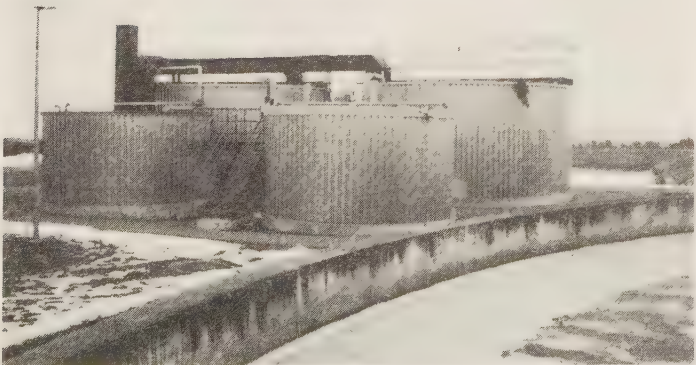
1) Probevolumen 100 ml

3.2.3. Untersuchungen an Praxisanlagen zur aerob-thermophilen Schlammstabilisierung

Um Anhaltspunkte für die Leistungsfähigkeit thermophiler Schlammstabilisierungsanlagen im Praxisbetrieb zu erhalten, wurden vergleichende Untersuchungen an den entsprechenden Anlagen folgender Klärwerke durchgeführt: Vilsbiburg (Bay) Gemmingen (B-W), GKW-Nette (NRW), Faßberg und Isenbüttel (Nds). Kernstück dieser Schlammbehandlungsanlagen sind jeweils zwei mit selbstansaugenden Belüftern ausgestattete, vollisolierte, zylindrische Reaktoren (Abb. 25). Diese werden im halb-kontinuierlichen, 2-stufigen Durchlaufverfahren oder im batch- Verfahren betrieben. Beide Betriebsweisen lassen eine Selbsterhitzung des behandelten Substrates in den thermophilen Temperaturbereich zu, wobei beim 2-stufigen Betrieb im 1. Reaktor in der Regel mesophile und erst im 2. Reaktor thermophile Bedingungen herrschen.

Abb. 25: Anlage zur aerob- thermophilen Schlammstabilisierung (Vilsbiburg)

Vorne: 2 Eindicker; hinten: 2 geschlossene Reaktoren mit Anschluß an einen biologischen Abluftwäscher



3.2.3.1. Betriebs- und Substratbedingungen

Eine großzügige Bemessung der Stabilisierungsreaktoren läßt in 4 der 5 untersuchten Anlagen bei dem gegenwärtigen Schlammanfall Aufenthaltszeiten von z.T. über 10 d zu. Damit weichen diese Anlagen erheblich von den von Loll (1984) angegebenen Bemessungswerten von $B_R = 4-5 \text{ g oTS/lxd}$ und $t_R = 5-7 \text{ d}$ ab. Dagegen wird die Stabilisierungsanlage GWK-Nette -gemessen an diesen Bemessungswerten- mit zu hoher Belastung betrieben (Tab. 25).

Tab. 25: Betriebsdaten der Praxisanlagen

Anlage	Reaktorvolumen (m ³)	B_R (goTS/lxd)	t_R (d)
Faßberg ¹	2 x 120	2,9	12
Vilsbiburg ¹	2 x 75	3,0	10
GWK Nette ¹	2 x 180	8,0	4,5
Isenbüttel ²	2 x 70	1,9	11
Gemmingen ^{2,3}	2 x 24	2,2	14

1) Anlagen im 2-stufigen, halbkontinuierlichen Durchlaufbetrieb

2) Anlagen im batch-Betrieb

3) Daten aus Breitenbücher, 1983

Tab. 26: Charakterisierung der verarbeiteten Rohschlämme

Anlage	CSB (g/l)	BSB ₅ (g/l)	TS (g/l)	oTS (g/l) %v.TS		Protein g/l %v.TS		Fett g/l %v.TS	
Faßberg	71,2	17,8	41,4	34,7	84	13,1	38	8,3	24
Vilsbiburg	60,7	18,8	44,3	30,3	68	10,7	35	7,0	23
GKW Nette	60,2	15,5	56,9	36,1	63	13,8	38	7,3	20
Isenbüttel	39,0	-	26,8	20,8	78	7,9	38	4,4	21
Gemmingen ¹	36,9	-	68,9	31,1	44	-	-	-	-

1) Daten aus Breitenbücher, 1983

Mit Ausnahme des Isenbütteler Schlammes, der nur 21 g oTS/l aufweist, liegen die oTS- Gehalte der Schlämme in einem Bereich von 30-36 g/l. Die Schlämme der Kläranlagen Faßberg und Isenbüttel, die rein kommunales Abwasser ohne Industrieanteil reinigen, sind durch einen relativ hohen Anteil von etwa 80% oTS an der Trockensubstanz gekennzeichnet. Als Folge beträchtlicher Bodeneinschwemmungen aus Ackerflächen in das Kanalsystem weist der Gemminger Schlamm einen außerordentlich hohen mineralischen und einen entsprechend niedrigen organischen Anteil an der Trockensubstanz (44%) auf. Hinsichtlich des Anteils der Stoffklassen Protein und Fett an der oTS zeigen die Klärschlämme nur geringfügige Unterschiede: der Proteinanteil liegt bei etwa 35-40%, der Fettanteil bei etwa 20-25% der oTS (Tab. 26).

3.2.3.2. Abbauleistung

In Tab. 27 sind die Abbaudaten der halbkontinuierlich betriebenen Stabilisierungsanlagen GKW Nette, Gemmingen, Vilsbiburg und Faßberg zusammengefaßt. Tab. 28 zeigt die entsprechenden Daten der im batch-Betrieb arbeitenden Anlagen Isenbüttel und Gemmingen. Die Daten für die Gemminger Anlagen wurden von Breitenbücher (1983) übernommen, der diese Anlage eingehend unter beiden Betriebsweisen untersucht hat; die Daten aller anderen Anlagen basieren auf eigenen Untersuchungen über jeweils etwa 1 Woche im Spätwinter (Feb.,/ März) 1985.

Tab. 27: Betriebsdaten und Abbauleistung von Praxisanlagen bei halbkontinuierlichen, 2-stufigem Durchlaufbetrieb

Anlage	t_R d	B_R goTS/lxd	T_{Rmax} °C	CSB gO ₂ /l	%Abb.	oTS g/l	%Abb.	BSB ₅ g/l	BSB ₅ CSB
GKW Nette ¹	4,5	8,0	-						
Rohschlamm	-	-	11	60,2	-	36,1	-	15,5	0,26
Reaktor I	2,25	16,0	25	50,6	16	32,8	9	-	-
Reaktor II	2,25	14,6	50	40,8	32	29,1	19	7,7	0,19
Gemmingen ²	6,9	4,3	-						
Rohschlamm	-	-	11	36,0	-	29,4	-	-	-
Reaktor I	3,5	8,5	43	-	-	22,3	24	-	-
Reaktor II	3,5	6,5	53	22,7	37	20,0	32	-	-
Vilsbiburg ¹	10	3,0	-						
Rohschlamm			10	60,7	-	30,3	-	18,8	0,31
Reaktor I	5	6,1	50	44,6	27	25,7	15	-	-
Reaktor II	5	5,1	55	25,6	58	17,1	44	4,9	0,19
Faßberg ¹	12	2,9	-						
Rohschlamm			7	71,2	-	34,7	-	17,8	0,25
Reaktor I	6	5,8	49	18,6	74	12,0	65	-	-
Reaktor II	6	2,0	50	14,5	80	10,8	69	1,3	0,09

1) Ergebnisse einer einwöchigen Betriebsuntersuchung (Feb./März 85)

2) Daten von 3 t_R - Perioden (Breitenbücher, 1983)

Tab. 28: Betriebsdaten und Abbauleistung von Praxisanlagen im batch-Betrieb

Anlage	t_R d	T_{Rmax} °C	CSB		oTS	
			g/l	% Abbau	g/l	% Abbau
Isenbüttel ¹	11	-				
Rohschlamm		14	39,0	-	20,8	-
Reaktorablauf		52	26,2	33	15,0	28
Gemmingen ²	8,4	-				
Rohschlamm		13	36,9	-	30,1	-
Reaktorablauf		60	22,9	38	19,6	35

1) Ergebnisse aus einem batch-Lauf (Feb./März 1985)

2) Daten von 11 batch-Läufen (Breitenbücher, 1983)

Die maximalen Reaktortemperaturen aller Anlagen lagen zum Zeitpunkt der Untersuchungen im Bereich von 50 - 60°C. Ausgehend von den zu dieser Zeit gegebenen Rohschlammtemperaturen von etwa 10°C bedeutet dies eine Erwärmung des behandelten Substrates um immerhin 40-50°C. Die Abbauleistungen der vier halbkontinuierlichen Praxisanlagen unterscheiden sich trotz der recht ähnlichen maximalen Betriebstemperaturen im 2. Reaktor doch recht drastisch. Damit darf allein das Erreichen thermophiler Temperaturen noch nicht als Ausdruck besonders hoher Abbaueffizienz verstanden werden. Vielmehr scheint die Abbauleistung der Praxisanlagen in erster Linie von deren Belastung abzuhängen. Die Anlage mit der höchsten Raumbelastung und entsprechend kurzer Retentionszeit (GKW Nette: $B_R = 8$ g oTS/lxd; $t_R = 4,5$ d) zeigt mit 20% oTS- Abbau die niedrigste, die Anlage mit der geringsten Belastung (Faßberg: $B_R = 3$ g oTS/lxd; $t_R = 12$ d) mit 70% oTS- Abbau die höchste Abbauleistung.

Da sich die Rohschlämme in ihrem oTS- Gehalt kaum unterscheiden, scheint der Retentionszeit des Substrates entscheidende Bedeutung für die Abbauleistung der Praxisanlagen zuzukommen. Dies gilt allerdings auch nicht uneingeschränkt für die Faßberger Anlage: hier erbringt bereits Reaktor I ($t_R = 6$ d) über 90% des Gesamtabbaus der Anlage. Offensichtlich resultiert aus dem hohen Anteil von Fäkal-schlamm, der in der Faßberger Kläranlage behandelt wird, ein Rohschlamm, der einem aerob- thermophilen Abbau außergewöhnlich gut zugänglich ist. Außer dem sehr hohen oTS- Anteil an der Trockensubstanz gibt die Analyse dieses Schlammes darauf zwar keine direkten Hinweise (normaler Protein- und Fettanteil, s.Tab. 26), allerdings sagen diese Summenparameter ja auch nichts über die biologische Abbaubarkeit des Schlammes aus.

Die unterschiedliche Betriebsweise der Gemminger Anlage hat keine gravierende Auswirkung auf deren Abbauleistung: sowohl bei halbkontinuierlichem als auch bei batch-Betrieb mit vergleichbaren Retentionszeiten wird ein oTS-Abbau von 32-35% erreicht. Die ebenfalls im batch-Betrieb arbeitende Anlage Isenbüttel bringt -gemessen an der immerhin 11-tägigen Behandlung des Schlammes- lediglich einen recht geringen oTS- Abbau von 28%.

Der Proteinabbau aller daraufhin untersuchten Praxisanlagen liegt etwa in der Größenordnung des Abbaus der Gesamt- oTS. Für die Fette konnten die Ergebnisse aus unseren Laborversuchen bestätigt werden: diese Stoffklasse wird generell deutlich besser abgebaut, als es dem Abbau der Gesamt- oTS entspricht (Tab.29).

Tab. 29: Abbau von Protein und Fett

Anlage	Protein			Fett		
	RS ¹ g/l	RII ² g/l	Abbau %	RS g/l	RII g/l	Abbau %
GKW Nette	13,8	10,7	23	7,3	4,8	34
Vilsbiburg	10,7	6,9	35	7,0	2,1	70
Faßberg	13,1	3,8	71	8,3	1,0	88
Isenbüttel	7,9	5,4	32	4,4	2,4	46

1) Rohschlamm

2) Ablauf Reaktor II

Hinsichtlich des Stabilisierungsgrades der aerob-thermophil behandelten Schlämme erreichen nicht alle Anlagen das angestrebte Prozessziel: Lediglich der Ablauf der Faßberger Anlage kann mit einem $BSB_5:CSB$ - Verhältnis unter 0,1 als "vollstabilisiert" gelten. Die Abläufe der Anlagen GKW Nette und Vilsbiburg können auf Grund ihres $BSB_5:CSB$ - Verhältnisses von 0,19 allenfalls als "teilstabilisiert" gelten (Tab. 27). Die Schlämme der letztgenannten Anlagen sind dementsprechend nicht frei von unangenehmen Geruchsemissionen, im Gegensatz zum Produkt der Faßberger Anlage, das den typisch "erdig-frischen" Geruch eines aerob stabilisierten Schlammes aufweist.

3.3. Diskussion

3.3.1. Laborfermenter als Modellanlagen zur aerob-thermophilen Behandlung organisch hochbelasteter Abwässer und Abwasserschlämme

In der vorliegenden Arbeit wurde mit Hilfe einer Laboranlage in vergleichenden Untersuchungen geprüft, inwieweit die Effizienz der aeroben Abwasserbehandlung und Schlammstabilisierung durch Anhebung der Betriebstemperatur in den thermophilen Bereich gesteigert werden kann.

Um tatsächlich nur den Einfluß der Temperatur auf die Abbauleistung der Laborfermenter zu erfassen, wurden jeweils innerhalb der einzelnen Versuchsreihen alle übrigen Betriebsparameter (Raumbelastung, Retentionszeit, Substratzusammensetzung und Belüftung) weitgehend konstant gehalten. Es wurde darauf geachtet, daß jeweils optimal an Temperatur und Belastung der Anlagen adaptierte Belebtschlämme in den Reaktoren vorlagen. Der Versuchsmaßstab (2-3l Arbeitsvolumen) erlaubte es, die Reaktoren maximal mit Sauerstoff zu versorgen (ca. 80 - 90% O₂- Sättigung). Damit kann man davon ausgehen, daß die Laboranlagen die optimalen Voraussetzungen für eine aerob-thermophile Prozeßführung bieten, wie sie in Praxisanlagen in der Regel nur annähernd geboten werden können.

Substrate entsprechender Untersuchungen waren Produktionsabwasser einer Hefefabrik und kommunaler Klärschlamm, also Substrate, die auf Grund ihres hohen Gehaltes an biologisch abbaubarer organischer Substanz auch grundsätzlich für eine aerob-thermophile Behandlung nach dem Prinzip der Selbsterwärmung in Frage kommen (Loll, 1974).

Bei Hefeabwasser, das praktisch die gesamte organische Belastung in gelöster Form enthält, bot sich dabei mittels einer relativ einfachen Bestimmung der produzierten Biomasse erstmals die Möglichkeit, die spezifische Abbau-

leistung substrat- und temperaturadaptierter Belebtschlämme an komplexen Substraten zu ermitteln.

Bei Klärschlamm, dessen thermophile Behandlung schon unter dem Gesichtspunkt der Entseuchung interessant erscheint, lag der Schwerpunkt der Untersuchungen bei der Temperaturabhängigkeit der Mineralisierung und Stabilisierung sowie einiger Schlammeigenschaften wie Sedimentations- und Entwässerungsverhalten. Dabei wurde die Belastung der mit Klärschlamm betriebenen Laboranlagen etwas höher eingestellt als es in Praxisanlagen üblich ist, um etwa bestehende Leistungsunterschiede zwischen meso- und thermophilen Anlagen nicht von vorne herein durch Substratlimitierung auszugleichen.

Somit sollte die vorliegende Arbeit einen Beitrag zur Klärung folgender Fragen leisten können:

- Wie wirken sich Temperaturen über dem von Müller-Neuhaus (1971) untersuchten mesophilen Bereich auf aerobe Abwasser- und Schlammbehandlungsanlagen aus?
- Sind Ergebnisse aus batch-Untersuchungen (Hartmann et al., 1979) zutreffend, wonach sich bereits Temperaturen über 30°C hemmend auf die Abbauleistung aerober Abwasserreinigungsanlagen auswirken, oder sind derartige Aussagen auf das Nichtvorhandensein temperaturadaptierter Mikroflora zurückzuführen?
- Worauf ist der Rückgang der oTS- Abbauleistung aerob- thermophiler Schlammstabilisierungsanlagen bei Temperaturen über 60°C zurückzuführen, den Matsch und Drnevich (1977), Breitenbücher (1983) und Bau (1985) beschreiben?

3.3.2. Temperaturabhängigkeit der Leistungsfähigkeit aerober Abwasser- und Schlammbehandlung

Für die Beurteilung der Leistungsfähigkeit dieser Reinigungsprozesse sind insbesondere zwei Kriterien maßgebend: Einmal die Mineralisierungsrate, die ein Maß für die Abbaugeschwindigkeit organischen Materials zu CO_2 und H_2O darstellt, zum anderen die Qualität des Endprodukts, wobei im Falle des Klärschlammes vor allem das Sedimentations- und Entwässerungsverhalten in Hinblick auf eine kostengünstige weitere Verwertbarkeit eine Rolle spielt.

Mineralisierungsrate

Um die Abbauleistung des jeweils vorliegenden, temperaturadaptierten Belebtschlammes zu beschreiben, schien es sinnvoll, die Masse an organischer Belastung (g oTS/l), die durch den biologischen Prozess zu CO_2 und H_2O abgebaut wurde, auf die organische Substanz (g oTS/l) zu beziehen, die im Belebtschlamm festgelegt wird ("spezifische Mineralisierungsleistung des Belebtschlammes"). Die im Belebtschlamm festgelegte Biomasse konnte im Fall des Hefeabwassers recht einfach als der zentrifugierbare Anteil des Fermenterinhaltcs bestimmt werden.

Wie die Untersuchungen zeigen, steigt die spezifische Mineralisierungsleistung des Schlammes bei gegebener Raumbelastung ($B_R = 9 \text{ g oTS/lxd}$) mit zunehmender Temperatur linear von 1,6 (25°C) auf 2,7 (60°C) an. Diese biotechnologisch äußerst wünschenswerte Steigerung der spezifischen Abbauleistung- sie bedeutet ja bei gleicher Abbauleistung eine weitaus geringere Festlegungsrate in Form von produzierter Biomasse- ergibt sich als Folge grundsätzlicher Unterschiede im Stoffwechsel meso- und thermophiler Mikroorganismen: thermophile Mikroorganismen weisen einen wesentlich niedrigeren assimilatorischen Wirkungsgrad auf als mesophile, d.h. bezogen auf den Substratverbrauch legen

thermophile Bakterien sehr viel weniger organisches Material in Form von Zellsubstanz fest als mesophile. Dieser Zusammenhang zwischen Temperatur und Wachstumsertrag, der aus Growth Yield-Bestimmungen an Bakterienkulturen unter definierten Substratbedingungen bereits bekannt ist (Sukatsch und Johnson, 1972; Coultate und Sundaram, 1975; Surucu et al., 1976; Sonnleitner, 1983), gilt also auch für das Wachstum komplexer, jeweils temperaturadaptierter Mikrofloren auf komplexen Substraten. Scheffler et al. (1982), die ebenfalls mit dem Substrat Hefeabwasser an einer Verfahrenskonzeption für aerob- thermophile Hochleistungsreaktoren zur Reinigung organisch hochbelasteter Abwässer arbeiten, bestätigen dies.

Allerdings ist die höhere spezifische Mineralisierungsleistung thermophiler Belebtschlämme nicht in jedem Fall gleichbedeutend mit einer entsprechend höheren Mineralisierungsleistung thermophil betriebener Anlagen -ausgedrückt als oTS- Mineralisierung pro Reaktorvolumen und Zeit (g oTS/lxd)-, wie Abb. 26 zeigt.

So ergibt sich in den mit Primärschlamm betriebenen Anlagen zwar eine deutliche Leistungssteigerung bei Temperaturerhöhung von 25°C auf 35°C -der Q_{10} -Wert liegt bei etwa 1,5- weitere Steigerungen der Betriebstemperatur resultieren jedoch in immer geringeren Steigerungen der Mineralisierungsleistung; der Q_{10} - Wert bei Temperaturerhöhung von 45°C auf 55°C liegt nur noch bei etwa 1,1.

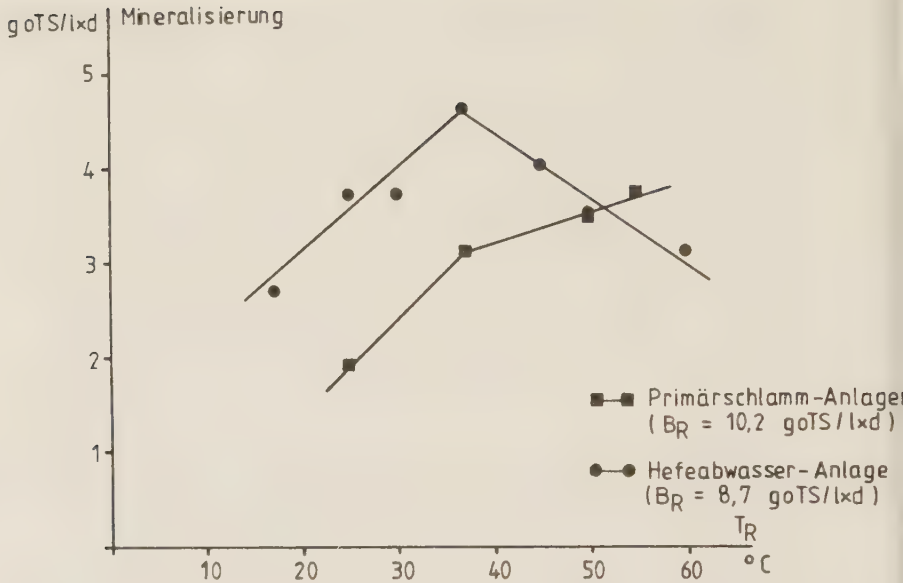


Abb. 26: Abbauleistung von Laboranlagen in Abhängigkeit von der Betriebstemperatur und dem verwendeten Substrat

In den Hefeabwasser- Anlagen zeigt sich sogar -trotz mit der Temperatur steigender spezifischer Mineralisierungsrate der Belebtschlämme- ein drastischer Rückgang der Mineralisierungsleistung pro Volumen bei den über 37°C betriebenen Anlagen (Abb. 26). Daß dieser Leistungsabfall der thermophilen Reaktoren durch deren geringen Schlammgehalt bedingt ist, kann ausgeschlossen werden, da in den thermophilen Reaktoren auch bei längeren Retentionszeiten kein höherer Abbaugrad der organischen Substanz erreicht wurde. Eine Erhöhung der Schlammkonzentration in den thermophilen Reaktoren und eine entsprechende Absenkung der Schlammbelastung durch Schlammrückführung hätte also keine Auswirkung auf die Abbauleistung dieser Anlagen. Der Grund für diesen Leistungsabfall der

Hefeabwasser- Anlagen liegt vielmehr darin, daß wesentliche Inhaltsstoffe des Hefeabwassers bei thermophilen Temperaturen nicht abgebaut werden, wie dies am Beispiel von Betain nachgewiesen werden konnte.

Diese offensichtliche Einengung des Substratspektrums thermophiler Belebtschlämme ist nicht nur bei der Behandlung unter Umständen relativ einseitig zusammengesetzter Industrieabwässer von Bedeutung, sondern spielt auch bei der Behandlung komplexerer Substrate wie Klärschlamm eine Rolle. Trotz höherer oTS- Mineralisierungsleistung der thermophil betriebenen Klärschlammanlagen weisen nämlich thermophil behandelte Schlämme einen deutlich höheren BSB_5 - Gehalt auf als der Ablauf mesophiler Anlagen. Dies weist darauf hin, daß auch bei diesem Substrat unter thermophilen Bedingungen kein, bzw. nur ein langsamerer Abbau spezifischer Inhaltsstoffe erfolgt, die jedoch während der bei 20°C durchgeführten BSB_5 - Bestimmung eine deutliche O_2 -Zehrung zeigen.

Es gibt bislang keine konkreten Hinweise, welche Inhaltsstoffe des Klärschlammes sich unter thermophilen Bedingungen als biologisch inert erweisen. Proteine und Fette allgemein kommen hierfür nicht in Betracht: beide Stoffklassen werden nämlich unter thermophilen Bedingungen wesentlich schneller abgebaut als unter mesophilen Bedingungen. Hierin besteht ein grundsätzlicher Unterschied zur anaeroben Klärschlammstabilisierung, die unter thermophilen Bedingungen einen mehr oder weniger deutlich schlechteren Fettabbau zeigt als unter mesophilen Bedingungen (Temper, 1983).

Ein Grund für den höheren BSB_5 - Gehalt des thermophil behandelten Schlammes könnte die intensivere Desintegration von Zellmaterial des Rohschlammes sein. Die raschere Zellyse bei thermophilen Temperaturen, die am Beispiel des Modellkeimes *Aquaspirillum peregrinum* nachgewiesen wurde, führt möglicherweise zur Freisetzung von Zellmaterial, das unter thermophilen Bedingungen zum Teil nicht abgebaut wird.

Der höhere BSB_5 - Gehalt thermophil behandelter Klärschlämme bedingt natürlich ein schlechteres BSB_5 :CSB- Verhältnis und damit einen insgesamt schlechteren Stabilisierungsgrad: während mesophil behandelte Klärschlämme ein BSB_5 :CSB- Verhältnis von unter 0,15 aufwiesen und damit als "vollstabilisiert" gelten (nach Loll, 1984), waren die Abläufe thermophiler Laboranlagen mit BSB_5 :CSB- Verhältnis $\geq 0,2$ allenfalls als "teilstabilisiert" zu bewerten. Dies trifft auch für die aerob- thermophil behandelten Schlämme der Praxisanlagen GKW- Nette und Vilsbiburg zu (BSB_5 :CSB=0,19). Im Fall der Anlage Faßberg (BSB_5 :CSB- Verhältnis des behandelten Schlammes = 0,09) kann dieser Nachteil der thermophilen Behandlung offensichtlich durch die sehr lange Retentionszeit von 12 Tagen ausgeglichen werden.

Bezüglich der BSB_5 - Bestimmung thermophil behandelter Schlämme ist darauf zu achten, daß -entsprechend der Testtemperatur dieser Bestimmung- auch tatsächlich eine Mikroflora im Testansatz vorliegt, die bei 20°C eine ausreichende Aktivität zeigt. Wie eigene Erfahrungen zeigten, ist die Aktivität der thermophilen Flora bei 20°C so gering, daß ein Animpfen der Proben mit adaptierten, bei 20°C aktiven Impfschlämmen unerlässlich ist, um nicht weit geringere Meßwerte zu erhalten, als den tatsächlichen Verhältnissen entspricht.

Absetz- und Entwässerungseigenschaften thermophil behandelter Schlämme

Unsere Laboruntersuchungen lassen zwar kaum absolute Aussagen über das Verhalten der Schlämme im technischen Behandlungsmaßstab zu, dennoch erlauben die vergleichenden Untersuchungen an 30°C- und 60°C- Anlagen relative Aussagen über die Temperaturabhängigkeit dieser Schlammeeigenschaften. Danach sedimentieren thermophile Belebtschlämme deutlich schlechter als mesophile; das gleiche gilt für thermophil behandelte Klärschlämme. Gründe hierfür sind einerseits eine

in ihrer Formenvielfalt verarmte thermophile Mikroflora, die kaum zur Bildung schnell sedimentierender Flocken neigt, andererseits die intensivere Desintegration des thermophil behandelten Klärschlammes, die zu einer verstärkten Dispersion zellulären Materials führt. Hierin dürfte auch eine der Ursachen für die deutlich erhöhte Trübwasserbelastung thermophil behandelter Schlämme liegen. Diese nachteiligen physikalischen Eigenschaften thermophiler Schlämme verursachen unter Umständen zusätzliche Kosten für Nachbehandlungsverfahren (Eindickung, Entwässerung) bzw. beim Transport der Schlämme und reduzieren dadurch die Kostenvorteile, die sich aus einer höheren Mineralisierungsleistung der Anlagen (s.o.) ergeben könnten. Arbeiten von Kiese et al. (1986) bestätigen, daß es sich bei dem schlechten Sedimentationsverhalten thermophiler Belebtschlämme um ein allgemeingültiges Phänomen handelt, das auf die geringe Flockengröße des thermophilen Schlammes zurückzuführen ist. Die Autoren untersuchen ebenfalls am Substrat Hefeabwasser die Reinigungsleistung eines thermophil betriebenen Airlift-Schlaufenreaktors, also eines Reaktortyps, der eine äußerst flockenschonende Belüftung und Umwälzung erlaubt. Demnach kann ausgeschlossen werden, daß in unseren eigenen Versuchen unter Umständen zu hohe Scherkräfte in den Reaktoren - verursacht durch hohe Rührerdrehzahlen - für das schlechte Sedimentationsverhalten der Belebtschlämme verantwortlich sein könnten.

3.3.3. Perspektiven

Zur Beseitigung der Nachteile thermophiler Verfahren zur aeroben Abwasser- und Schlammbehandlung gerade bezüglich des Stabilisierungsgrades und der ungünstigen Sedimentationseigenschaften bietet sich eine Verfahrenskombination mit einer mesophilen Stufe an. Damit sollte eine Nutzung der Vorteile thermo- und mesophiler Behandlung möglich sein.

Die Kombination thermophil/mesophil scheint der bislang in der Praxis der aerob- thermophilen Schlammstabilisierung angewandten Kombination mesophil/thermophil überlegen zu sein, wie erste Laborversuche zeigten: da die thermophile Mikroflora der 1. Stufe die Hauptmasse der organischen Substanz eines Substrates bei relativ geringer Neuproduktion von Biomasse abbaut, ist das Nahrungsangebot für die mesophile Mikroflora der 2. Stufe im wesentlichen auf die Anteile der organischen Substanz beschränkt, die unter thermophilen Bedingungen nicht abgebaut werden. Dies führt zu einer besseren Auszehrung und damit zu einem besseren Stabilisierungsgrad des Substrates. Die besseren Flockungseigenschaften der mesophilen Mikroflora begünstigen die Sedimentationseigenschaften und verringern die Trübwasserbelastung. Damit beschränkt sich die Hauptaufgabe der mesophilen Stufe praktisch auf eine Nachbehandlung zur Verbesserung der Schlammeigenschaften der 1. Stufe.

Durch Einsatz von Wärmetauschern sollte es heute technisch möglich sein, die 1. Stufe bei konstant thermophilen Temperaturen zu betreiben, wenn der Energiegewinn aus der Abkühlung des thermophilen Schlammes vor Zugabe in die konstant mesophile 2. Stufe zur Aufheizung des Rohschlammes genutzt wird. Ein Betrieb der Reaktoren bei konstant thermophilen bzw. mesophilen Temperaturen brächte nicht nur bedeutende biotechnologische Vorteile hinsichtlich optimal adaptierter Mikrofloren mit sich, sondern würde auch eine definierte Verweildauer bei hohen Temperaturen garantieren und damit eine schnelle und sichere Entseuchung des Schlammes gewährleisten. Diese beiden Aspekte finden in den heute in der Praxis realisierten Anlagen zur aerob-thermophilen Schlammstabilisierung nach dem Prinzip der Selbsterwärmung noch nicht genügend Beachtung.

4. UNTERSUCHUNGEN ZUR MIKROFLORA
AEROB-THERMOPHILER
ABWASSER- UND SCHLAMMBEHANDLUNGSANLAGEN

4.1. EINLEITUNG

Bisher vorliegende Untersuchungen zur Mikroflora verschiedener Versuchs- und Praxisanlagen zur aerob- thermophilen Schlammstabilisierung berichten von Lebendkeimzahlen (LKZ) thermophiler Mikroorganismen in einem Bereich von 10^3 - 10^5 /ml (Ottow et al., 1984) bzw. 10^5 - 10^9 /ml (von Steldern et al., 1973; Sonnleitner und Fiechter, 1983, 1985).

Die große Schwankungsbreite dieser Angaben sowie die teilweise auffallend niedrigen Titerwerte lassen Zweifel zu, inwieweit diese Bestimmungen als Grundlage repräsentativer Aussagen über die jeweils vorherrschende Mikroflora geeignet sind. Diese Einschränkung gilt um so mehr, als bislang nie untersucht wurde, welcher Anteil der physiologisch aktiven Mikroflora der thermophilen Prozesse tatsächlich auch bei der Plattierung als Lebendkeimzahl erfaßt wird. Vor allem Schwankungen der Zulaufqualität und -quantität und entsprechend der Reaktortemperaturen bedingen in Praxisanlagen erhebliche Fluktuationen der Florenzusammensetzung (Wöhrle, 1984) und erschweren damit die Bestimmung der repräsentativen Mikroflora aerob- thermophiler Prozesse.

Deshalb werden im folgenden zunächst Florenanalysen an Laboranlagen durchgeführt, die mit Hefeabwasser bzw. Klärschlamm bei 60°C unter steady-state-Bedingungen betrieben wurden. Um überhaupt eine Grundlage für die Analyse der jeweiligen Hauptflora zu schaffen, wurde durch Optimierung der Medien- und Kulturbedingungen versucht, einen möglichst hohen Anteil der physiologisch aktiven Flora dieser Anlagen auf festen Nährböden zu erfassen. Für die Bestimmung der physiologisch aktiven Keime wurde auf die von Zimmermann et al., (1978) beschriebene in situ-Aktivitätsfärbung mit INT (2-(p-Jodphenyl)-3-(p-nitrophenyl)-5-phenyltetrazoliumchlorid) zurückgegriffen. Diese Färbung erlaubt eine Aussage über die theoretisch zu erwartende Lebendkeimzahl eines mikrobiellen Systems.

Die Differenzierung und taxonomische Zuordnung der durch Plattierung erfaßten Hauptvertreter der thermophilen Mikroflora erfolgte hinsichtlich der morphologischen, physiologischen, biochemischen und molekulargenetischen Eigenschaften.

Um die Übertragbarkeit der Ergebnisse aus den Laboranlagen auf Praxisverhältnisse zu überprüfen, wurde schließlich mit Hilfe der Immunfluoreszenztechnik bestimmt, welche Rolle die Mikroflora der entsprechenden Laboranlage in den Praxisanlagen zur aerob- thermophilen Schlammstabilisierung spielt.

4.2. ERGEBNISSE

4.2.1. Mikroflora thermophil betriebener Laboranlagen

In Tab. 30 sind die wichtigsten Betriebsparameter der beiden Laboranlagen zusammengefaßt, deren Mikroflora im folgenden untersucht wird. Nach einer Adaptationsphase von mehreren Wochen erstreckten sich die Untersuchungen zur Mikroflora dieser Anlagen über einen Probenahme-Zeitraum von 8 Wochen.

Tab. 30: Betriebsparameter der bei 60°C betriebenen Laboranlagen

Zulauf	Reaktor H	Reaktor S
	Hefeabwasser	Sekundärschlamm
CSB (g O ₂ /l)	20	60
BSB ₅ (g O ₂ /l)	15,2	22,1
TS (g/l)	25,6	39,7
oTS (g/l)	17,4	31,5
Beschickung	kontinuierlich	halbkontinuierlich in 12-h-Intervallen
t _R (d)	1	2,5
B _R (g oTS/lxd)	17,4	12,6
O ₂ -Gehalt (% Sättigung)	80	80

4.2.1.1. Gesamtkeimzahl, Zahl physiologisch aktiver Keime, Lebendkeimzahl

Im folgenden sind diese 3 Bestimmungsgrößen einer quantitativen Florenanalyse noch einmal kurz definiert und erläutert.

Die Gesamtkeimzahl wird bestimmt durch fluoreszenzmikroskopische Auszählung der Zellen einer verdünnten, mit Acridinorange gefärbten Probe. Diese Färbung beruht auf der Anlagerung des Fluoreszenzfarbstoffes an Nucleinsäuren der Bakterienzellen und erfaßt dementsprechend sowohl physiologisch aktive als auch inaktive Keime einer Mikroflora.

Die Bestimmung der Zahl physiologisch aktiver Keime (Aktiven-Keimzahl) beruht auf der Fähigkeit der entsprechenden Zellen, INT (2-(p-Jodphenyl)-3-(p-nitrophenyl)-5-phenyltetrazoliumchlorid) unter in situ-Bedingungen (60°C) intrazellulär zu wasserunlöslichem INT-Formazan zu reduzieren. Da diese Fähigkeit das Vorliegen von Reduktionsäquivalenten, also einen Metabolismus voraussetzt, kann diese mikroskopisch sichtbare Reaktion als Ausdruck der physiologischen Aktivität der Mikroflora eines Habitats gewertet werden.

Die Lebendkeimzahl gibt die Anzahl der zur Koloniebildung auf festen Nährböden fähigen Keime nach Plattierung einer verdünnten Probe wieder. Medienwahl und Anzuchtbedingungen- die Bebrütung erfolgt in unserem Fall bei 60°C- haben entscheidenden Einfluß auf die Höhe der Lebendkeimzahl. Für die qualitative Analyse der repräsentativen Mikroflora eines Habitats sollte ein möglichst hoher Anteil der physiologisch aktiven Flora als Lebendkeimzahl erfaßbar sein.

Gesamtkeimzahl, Aktivenkeimzahl und Lebendkeimzahl der beiden Laboranlagen sind in Tab. 31 dargestellt.

Tab. 31: Gesamtkeimzahl (GKZ), Aktivenkeimzahl (AKZ) und Lebendkeimzahl (LKZ) der Laboranlagen

	Fermenter H	Fermenter S	
	Fermenterinhalt ¹	Rohschlamm ¹	Fermenterinhalt ¹
GKZ/ml	$1,4 \times 10^9 \pm 0,4 \times 10^9$	$4,8 \times 10^9 \pm 2,8 \times 10^9$	$15,5 \times 10^9 \pm 3,6 \times 10^9$
AKZ/ml	$1,1 \times 10^9 \pm 0,2 \times 10^9$	$0,01 \times 10^9$	$8,2 \times 10^9 \pm 2,3 \times 10^9$
LKZ/ml	$0,5 \times 10^9 \pm 0,1 \times 10^9$	$10^3 - 10^4$	$5,0 \times 10^9 \pm 1,1 \times 10^9$

1) Mittelwert $\pm \sigma$; n = 5

Reaktor H

Reaktor H, der ja grundsätzlich kontinuierlich betrieben wurde, wurde vor und während der Florenuntersuchungen mit zentrifugiertem, also praktisch bakterienfreiem Hefeabwasser beschickt. Dementsprechend ist der Anteil physiologisch aktiver Keime an der Gesamtkeimzahl dieser Anlage erwartungsgemäß sehr hoch (ca. 80%). Rund 45% der Aktivenkeimzahl konnten durch Plattierung als Lebendkeimzahl erfaßt werden (Tab. 31).

Die Mikroflora dieser Anlage zeigt die besten Anwachsrate auf Nährböden, die lediglich aus 10-fach verdünntem Hefeabwasser, 7 g KCl/l und 15 g Agar/l bestehen. Bei Verwendung üblicher, nährstoffreicher Vollmedien wurden drastisch verminderte Lebendkeimzahlen im Bereich von 10^6 /ml ermittelt.

Reaktor S

Auf Grund des semikontinuierlichen Betriebs von Reaktor S ergibt sich ein periodischer Verlauf der Aktivenkeimzahl: sie erreicht etwa 3 h nach Rohschlammzugabe ein Maximum und sinkt

dann langsam wieder auf das Ausgangsniveau zurück (Abb. 27). Dementsprechend wurden Proben zur Lebendkeimzahlbestimmung und Isolierung von Reinkulturen zum Zeitpunkt der höchsten Aktivität gezogen.

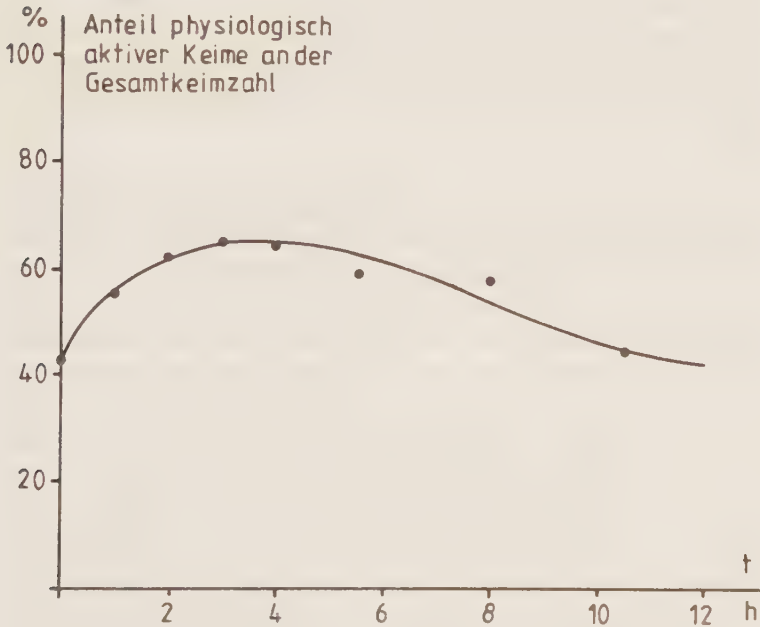


Abb. 27: Anteil der physiologisch aktiven Keime an der Gesamtkeimzahl in Reaktor S während eines Zulaufintervalles

Die hohe Gesamtkeimzahl in Reaktor S geht letztlich auf den hohen Gehalt des Rohschlammes an Zellen zurück, die unter thermophilen Bedingungen erwartungsgemäß inaktiv sind. Im Vergleich mit Reaktor H liegt die Aktivenkeimzahl in Reaktor S fast um den Faktor 8 höher (Tab. 31).

Durch Optimierung der Medien- und Anzuchtbedingungen konnten rund 60% der physiologisch aktiven Flora als Lebendkeimzahl erfaßt werden.

Als am besten geeignet für Routinebestimmungen der Lebendkeimzahl erwies sich Vollmedium (nach Ottow, 1974), dessen pH- Wert entsprechend den Bedingungen in Reaktor S auf 8,5 angehoben wurde; die besten Wachstumseigenschaften (Kolonieausprägung, etc.) wurden erzielt, wenn dieses Medium mit etwa 10-20% Schlammextrakt aus dem Reaktor supplementiert wurde.

4.2.1.2. Charakterisierung und taxonomische Zuordnung von Isolaten aus der Hefeabwasseranlage

Das mikroskopische Bild des Belebtschlammes aus Reaktor H läßt eine morphologisch sehr einheitliche Zusammensetzung der thermophilen Mikroflora erkennen (Abb. 28).



Abb. 28: Phasenkontrastmikroskopische Aufnahme des Belebtschlammes aus Reaktor H

Diese geringe Formenvielfalt der Mikroflora zeigt sich in gleichem Maß im Koloniebild der auf festen Nährböden wachstumsfähigen Flora. Es treten fast ausschließlich rot pigmentierte Kolonien mit etwa 1-2 mm Durchmesser auf. Auf Grund leichter Farbabstufungen konnten 3 Stämme differenziert werden- Stamm H1 (orange), Stamm H 2 (karmin), Stamm H 3 (kirsch)-, die jeweils etwa ein Drittel der Lebendkeimzahl der thermophilen Mikroflora von durchschnittlich $0,5 \times 10^9/\text{ml}$ ausmachen (s. Tab. 31).

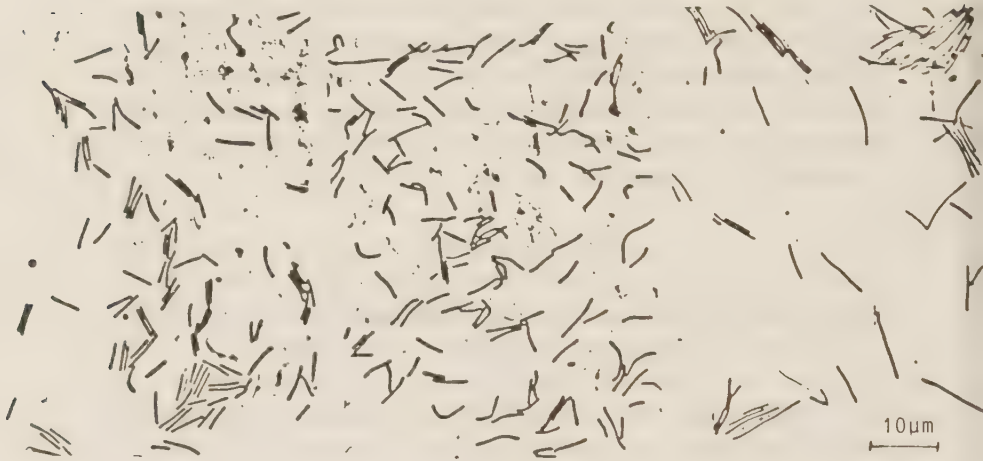
Bacillen, die allgemein als typische Vertreter thermophiler Mikrofloren gelten, spielten in Reaktor H nur eine sehr untergeordnete Rolle. Bei einer Lebendkeimzahl von etwa $2 \times 10^6/\text{ml}$ haben Bacillen lediglich einen Anteil von unter 1% an der physiologisch aktiven Flora. Im Gegensatz zur Hauptflora dieser Anlage konnte diese Untergrundflora auch auf nährstoffreichen Medien kultiviert werden.

Rund 90% dieser Hintergrundflora wurden durch eine Gruppe von Isolaten (Stamm H12-H16) gestellt, die untereinander phänotypisch und genotypisch sehr ähnlich sind und einer neu beschriebenen Art "*B.pallidus*" zugeordnet wurden (Scholz et al., 1986). Ein weiterer Bacillus-Stamm (Stamm H11) der lediglich im Keimzahlbereich von $10^5/\text{ml}$ vorkommt, zeigt hohe DNS/DNS-Homologie sowohl mit dem Typstamm als auch anderen Vertretern von *B.stearothermophilus* und wurde daher dieser Art zugeordnet.

Morphologische und physiologische Eigenschaften der Isolate H1 - H3

Bei den Isolaten H1, H2 und H3, die die Hauptflora der Anlage H repräsentieren, handelt es sich um Gram-negative unbewegliche, schlanke, gerade bis leicht gebogene Stäbchen (ca. $0,5 \times 5 - 10\mu\text{m}$; Abb. 29). Elektronenmikroskopische Aufnahmen lassen einen für Gram-negative Bakterien äußerst ungewöhnlichen Zellwandaufbau erkennen (Abb. 30).

Eine für Gram-negative Bakterien typische äußere Membran fehlt, statt dessen ist eine pflastersteinähnliche äußere Hüllschicht auf das Murein aufgelagert.



Isolat H 1

Isolat H 2

Isolat H 3

Abb. 29: Phasenkontrastmikroskopische Aufnahmen der Isolate aus Reaktor H



Abb. 30: Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Dünnschnittes von Isolat H 3

Die Stämme bilden ein rotes, intrazelluläres Pigment, wachsen strikt aerob, besitzen Katalase und Oxidase und bilden keine Endosporen. Wachstum wird beobachtet zwischen etwa 30 und 70°C, wobei der optimale Bereich zwischen 55 und 65°C liegt (Tab. 32). Auffallend ist die hohe Antibiotikaempfindlichkeit der Isolate; bereits bei einer Penicillinkonzentration von 0,1 µg/ml erfolgt eine vollständige Wachstumshemmung von Isolat H1.

Die gute Übereinstimmung der morphologischen und physiologischen Daten mit Eigenschaften verschiedener *Thermus*-Stämme, insbesondere mit denen der moderat thermophilen Art *T. ruber*, gab Anlaß zu der Vermutung, daß es sich bei den Isolaten H1 - H3 um Angehörige dieser Gattung handeln könnte. Dieser Verdacht konnte durch chemotaxonomische und molekulargenetische Untersuchungen bestätigt werden.

Tab. 32: Wachstumstemperaturen der Isolate im Vergleich mit *T. ruber*

Stamm	Wachstumstemperatur °C		
	Minimum	Optimum	Maximum
Isolat H1	ca. 30	55	67
Isolat H2	37	65	70
Isolat H3	ca. 30	55	67
<i>T. ruber</i> DSM 1279	37	60	70

Spektraleigenschaft der Pigmente

Die Isolate enthalten ebenso wie T.ruber DSM 1279 ein mit Aceton extrahierbares Pigment, das die charakteristischen Spektraleigenschaften eines Carotinoids zeigt. Sowohl in der Lage der Absorptionsmaxima bei etwa 480 nm und 510 nm als auch der Schulter bei etwa 450 nm stimmen die Pigmente der Isolate sehr gut mit dem Pigment von T.ruber DSM 1279 überein (Tab. 33; Abb. 31).

Tab. 33: Vergleich der Absorptionseigenschaften der Pigmente aus den Isolaten und aus T.ruber

	Schulter (nm)	Maxima (nm)	
Isolat H1	448	476	504
Isolat H2	463	492	519
Isolat H3	450	479	508
T.ruber DSM 1279	448	479	508

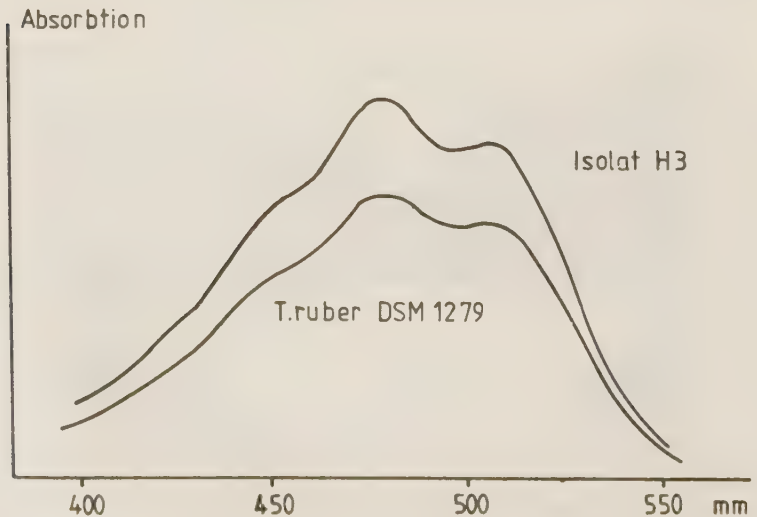


Abb. 31: Absorptionsspektrum der mit Aceton extrahierten Pigmente von Isolat H3 und T.ruber

Isoprenoid-Chinon-Typ

In Übereinstimmung mit T.ruber DSM 1279 besitzen alle Isolate als Hauptkomponente der Isoprenoid-Chinone ein ungesättigtes Menachinon mit 8 Isoprenoid-Einheiten (MK-8). MK-7 und MK-6 machen etwa 0 - 2% aus, lediglich bei Isolat H 2 steigt der Anteil von MK-7 auf etwa 13% (Tab. 34).

Tab. 34: Menachinon- Gehalt der Thermus- Stämme

Stamm	Menachinon (%)		
	MK-6	MK-7	MK-8
Isolat H1	0,0	1,0	99,0
Isolat H2	2,2	13,2	85,6
Isolat H3	0,0	1,0	99,0
T.ruber DSM 1279	0,0	1,0	99,0

Fettsäurezusammensetzung

Tab. 35: Fettsäurezusammensetzung der Isolate im Vergleich mit T.ruber DSM 1279

Stamm	Fettsäure %											
	verzweigt						unverzweigt					
	anteiso		iso									
	15:0	17:0	13:0	14:0	15:0	16:0	17:0	14:0	15:0	16:0	17:0	
H 1	7,0	3,1	0,4	1,9	<u>52,7</u>	8,5	<u>15,9</u>	1,0	2,3	6,3	0,9	
H 2	5,7	3,4	0,6	4,0	<u>44,2</u>	15,0	<u>17,8</u>	0,3	4,8	1,7	2,4	
H 3	4,4	2,7	0,3	4,8	<u>43,1</u>	14,3	<u>11,8</u>	2,5	6,4	9,6	0,0	
T.ruber	0,5	1,0	0,0	0,0	<u>59,8</u>	1,9	<u>34,7</u>	0,0	0,7	1,0	0,7	
" 1)	8,3	7,3			30,6		15,8					

1) Daten aus Loginova et al. (1984)

Hauptkomponente der Fettsäuren sowohl der Isolate als auch von T.ruber DSM 1279 ist die gesättigte, iso- verzweigte Pentadecansäure (15:0), T.ruber unterscheidet sich jedoch von den Isolaten durch einen niedrigeren Gehalt an iso-verzweigter Hexadecansäure (16:0), sowie einen deutlich höheren Anteil an iso-verzweigter Heptadecansäure (17:0) (Tab. 35). Der im Rahmen dieser Untersuchungen für T.ruber ermittelte Gehalt der letztgenannten Säure liegt mit 34,7% wesentlich über den 15,8%, die von Loginova et al. (1984) in der Artbeschreibung angegeben werden und die eher den Analysenwerten für unsere Isolate entsprechen. Allerdings ergeben die von den Autoren berichteten Daten insgesamt nur 62% der Fettsäuren, über die restlichen 38% liegen keine Angaben vor.

Peptidoglycanstruktur

Die Aminosäurezusammensetzung des Mureins von Stamm H 3 und T.ruber ist in Tab. 36 wiedergegeben. Aus diesen Daten läßt sich ein pauschaliertes Molverhältnis der Murein-Aminosäuren beider Stämme von Glu: Ala: Gly: Orn: Mur = 1:2:2:1:1 ableiten.

Die Konfigurationsbestimmung von Ala ergab einen Anteil von 40% D-Ala; Ornithin liegt in der L-Konfiguration vor.

Tab. 36: Molverhältnis der Aminosäuren des Mureins von T.ruber und Isolat H 1

	Glu	Ala	Gly	Orn	Mur
T.ruber DSM 1279	1,0	2,2	2,0	1,0	1,0
Isolat H3	1,0	1,7	1,8	1,1	0,8

Zur Aufklärung der Primärstruktur des Mureins wurden Partialhydrolysate der Zellwände (4N HCl/0,5h/100°C) weiter analysiert. Abb. 32 zeigt das Peptid- bzw. Aminosäuremuster des Partialhydrolysates der Zellwand von Isolat H 3 nach 2-dimensionaler papierchromatographischer Auftrennung. T.ruber ergibt ein entsprechendes Bild.

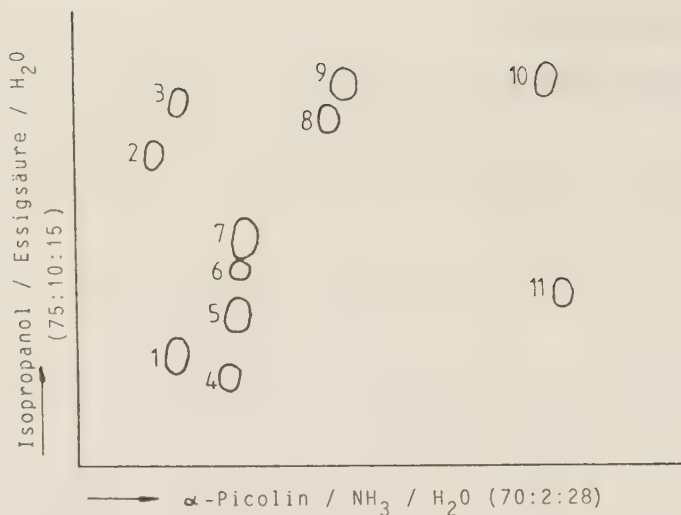


Abb. 32. 2-dimensionale Trennung eines Partial-Hydrolysates der Zellwand von Isolat H 3

1 = Orn, 2 = D-Glu, 3 = L-Ala-D-Glu, 4 = N⁵-Gly-L-Orn,
 5 = L-Orn-D-Ala, 6 = Gly-Gly, 7 = Gly, 8 = D-Ala-Gly,
 9 = Ala, 10 = Mur, 11 = GlcNH₂

Die Aminosäurezusammensetzung der aus dem Chromatogramm eluierten Peptide wurde nach deren Totalhydrolyse bestimmt. Freie Aminogruppen wurden durch Dinitrophenylierung der Peptide ermittelt.

Von entscheidender Bedeutung für die Strukturermittlung des Mureins sind die Peptide, die an einer Quervernetzung der Peptidoglycan-Untereinheiten beteiligt sind. Aus dem Vorkommen der Peptide D-Ala-Gly, N⁵-Gly-L-Orn, L-Orn-D-Ala und Gly-Gly läßt sich eine Mureinstruktur ableiten, die in Abb. 33 wiedergegeben ist.

Die δ -Aminogruppe des L-Ornithins an Position 3 der Peptiduntereinheit ist über eine Glycylglycin-Interpeptidbrücke mit der Carboxylgruppe von D-Alanin an Position 4 einer benachbarten Peptiduntereinheit quervernetzt. Durch Dinitrophenylierung des Mureins reduziert sich der Glycingehalt um etwa 22%. Dies läßt auf einen Quervernetzungsgrad des nativen Mureins von etwa 56% schließen.

Die Primärstruktur des Peptidoglycans von Stamm H1 bzw. T.ruber entspricht also dem von Schleifer und Kandler (1972) für *Deinococcus* (*Micrococcus*) *radiodurans* beschriebenen Mureintyp der Variation A3B.

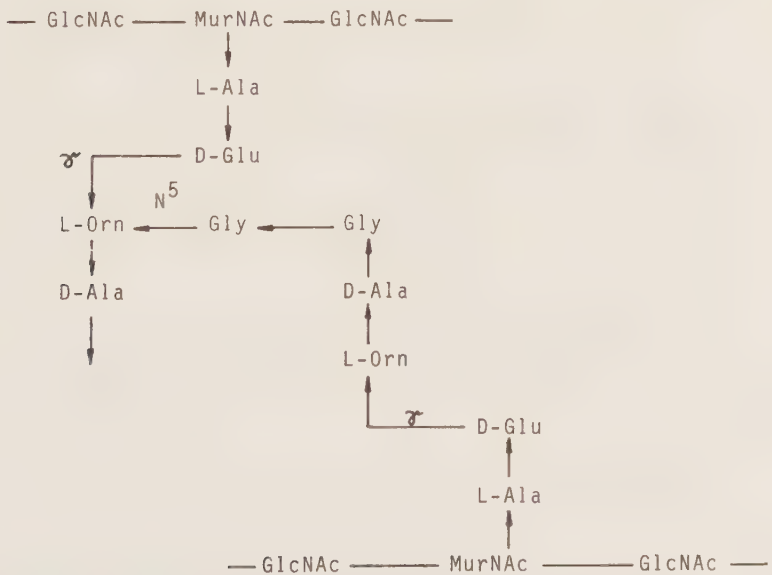


Abb. 33: Strukturvorschlag für das Peptidoglycan von Isolat H 3 bzw. T.ruber DSM 1279

G+C- Gehalt und DNS/DNS-Homologie

Der G+C- Gehalt der Isolate liegt in einem Bereich von 58 - 65,5 mol%, T.ruber hat einen G+C-Gehalt von 61,7 mol% (Tab. 37). Obwohl die G+C- Werte der Isolate relativ deutlich differieren, bilden diese Stämme eine eindeutige Homologiegruppe.

Die DNS/DNS- Homologie von etwa 50-60% zeigt signifikante genetische Verwandtschaft der Isolate mit T.ruber DSM 1279 an.

Tab. 37: mol% G+C und DNS/DNS- Homologiewerte der Thermus-Stämme

	G+C (mol%)		% DMA/DNA-Homologie			
	T _m ¹	HPLC ²	H1	H2	H3	T.ruber
Isolat H1	59,3	58	100			
Isolat H2	65,4	65,6	94	100		
Isolat H3	62,4	62,1	100	83	100	
T.ruber DSM1279	61,7	-	58	48	60	100

- 1) Bestimmung durch thermische Denaturierung
- 2) Bestimmung durch HPLC- Trennung der Nucleotide

Taxonomische Einordnung der Isolate

Die als Hauptvertreter der thermophilen Mikroflora aus Reaktor H isolierten Stämme H1, H2 und H3 zeigen große morphologische und physiologische Ähnlichkeit mit T.ruber. Diese Ähnlichkeit bestätigt sich durch ein hohes Maß an Übereinstimmung in einer Reihe biochemischer Merkmale (Besitz von Menachinonen, Fettsäurezusammensetzung, Mureinstruktur,

G+C- Gehalt der DNS). Die Übereinstimmung in diesen sehr komplexen phänotypischen Eigenschaften läßt eine Zuordnung der Isolate zu *T. ruber* sicher gerechtfertigt erscheinen, obwohl nur eine DNS/DNS-Homologie von 50-60% vorliegt, die für sich allein noch kaum für eine gemeinsame Artzugehörigkeit ausreichen würde.

Das Vorliegen der gleichen Mureinstruktur in der Gram-negativen Gattung *Thermus* und in der Gram-positiven Gattung *Deinococcus* war Anlaß für vergleichende molekulargenetische Untersuchungen dieser beiden Gattungen (Hensel et al., 1986). Die Oligonucleotidkatalogisierung der ribosomalen 16 S rRNS verschiedener *Thermus*-Arten bestätigt eine signifikante phylogenetische Verwandtschaft zwischen *Thermus* und *Deinococcus*, wobei sich zwischen diesen beiden Gattungen höhere Ähnlichkeitskoeffizienten ergaben als zwischen *Thermus* und irgendeiner anderen Gruppe von Eubakterien.

In dieser engen Verwandtschaftsbeziehung zu einer Gram-positiven Gattung finden somit alle eher für Gram-positive Bakterien typischen Merkmale der Gattung *Thermus* (Mureinstruktur, Besitz von Menachinonen und iso-verzweigten Fettsäuren, hohe Antibiotikaempfindlichkeit) eine Erklärung.

4.2.1.3. Charakterisierung und taxonomische Zuordnung von Isolaten aus der Klärschlammanlage

Die bei der Lebendkeimzahlbestimmung erfaßte Mikroflora aus Reaktor S (5×10^9 /ml) läßt sich hinsichtlich morphologischer Eigenschaften in 3 Gruppen einteilen. Mit einer Lebendkeimzahl von $2,8 \times 10^9$ /ml -entsprechend einem Anteil von 34% an der physiologisch aktiven Flora- stellt eine durch 3 Stämme repräsentierte Gruppe von Bacillen die Hauptflora in Reaktor S (Isolate S 6001, S 6025, S 6026). Als zweithäufigster Vertreter der Mikroflora wurde ein coccoides bis keuliges, Gram-positives Stäbchen isoliert (S 6022), das mit einer Lebendkeimzahl von $1,8 \times 10^9$ auftritt und 22%

der aktiven Flora im Reaktor ausmacht. Dritthäufigster Vertreter ist mit deutlich geringerer Lebendkeimzahl ($0,4 \times 10^9$ /ml, entsprechend 5% der aktiven Flora) ein weiterer Vertreter der Gattung *Bacillus* (Isolat S 6042).

Physiologische Eigenschaften der Isolate (Tab. 38)

Bei allen Isolaten handelt es sich um strikt aerobe, moderat thermophile Bakterien, deren pH- Optimum - mit Ausnahme von S 6042 - im alkalischen Bereich bei etwa pH 8-9 liegt. Da sich die Isolate mit Hilfe üblicher physiologischer Testreaktionen kaum hinreichend charakterisieren lassen, stützt sich die taxonomische Zuordnung auf biochemische und molekulargenetische Eigenschaften der Isolate.

Tab. 38: Physiologische Eigenschaften der Isolate

	S 6001	S 6025	S 6026	S 6042	S 6022
Sporenbildung	o	+	o	+	-
Wachstum auf/ Säure aus					
Glucose	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
Fructose	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
Saccharose	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
Maltose	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
Trehalose	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
anaerobes Wachstum	-	-	-	-	-
Katalase	+	+	+	+	+
Oxidase	+	+	+	(+)	+
Abbau von Stärke	-	-	o	-	+
Gelatine	-	o	o	-	o
Casein	-	-	o	-	-
Zellulose	-	-	-	-	-
CM-Zellulose	-	-	-	-	-
Nitratreduktion	-	-	o	-	-
NH ₃ -Bildung aus Pepton	(+)	(+)	o	+	-
Temperaturoptimum(°C)	ca.55	ca.55	ca.55	ca.55	ca.55
Wachstum bei 37°C	-	-	-	(+)	+
70°C	-	-	-	-	-
Wachstum bei pH 7,0	-	-	-	+	(+)
pH 8,5	+	+	+	+	+

+ = positiv

(+) = schwach positiv

- = negativ

o = nicht bestimmt

Isolate S 6001, S 6025, S 6026

Diese Isolate zeigen zwar geringe morphologische Unterschiede (Abb. 34), bilden jedoch hinsichtlich ihrer biochemischen und genetischen Eigenschaften eine einheitliche Gruppe; Sporenbildung wurde zumindest bei S 6025 beobachtet. Die Isolate besitzen m-DAP-haltige Zellwände, deren Aminosäuren in einem Molverhältnis Glu:m-DAP:Ala = 1:1:1,6 vorliegen. Dementsprechend weisen die Stämme den für die Mehrzahl der Bacillus-Arten typischen, m-DAP-direkt quervernetzten Peptidoglycantyp auf (Variation A 1~~x~~ nach Schleifer und Kandler, 1972). Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Dünnschnitten des Isolats S 6025 zeigen den für Gram-positive Bakterien typischen Zellwandaufbau mit einer dicken Mureinschicht (Abb. 35).

Die Bestimmung des Isoprenoid-Chinon-Typs der Isolate ergab, daß als Hauptkomponenten jeweils zwei Menachinone (MK 7/0 und MK 8/0) vorhanden sind, die zusammen rund 90% der gesamten Isoprenoid-Chinone ausmachen (Tab. 39).

Das gleichzeitige Auftreten von MK-7 und MK-8 in etwa gleichen Mengen stellt eine Besonderheit innerhalb der Gattung Bacillus dar, da die überwiegende Mehrzahl der Bacillus-Arten lediglich MK 7/0 als Hauptkomponente und daneben allenfalls noch kürzerkettige Menachinone aufweist (Collins und Jones, 1981).

Tab. 39: Isoprenoid-Chinon-Typ der Isolate S 6025 und S 6026

Stamm	Menachinon-Gehalt (%)					
	MK-5/0	MK-6/0	MK-7/0	MK-8/0	MK-9/0	MK-10/0
S 6025	2,9	0,8	41,3	51,9	1,1	2,0
S 6026	5,5	4,4	49,9	39,5	0,7	0,0

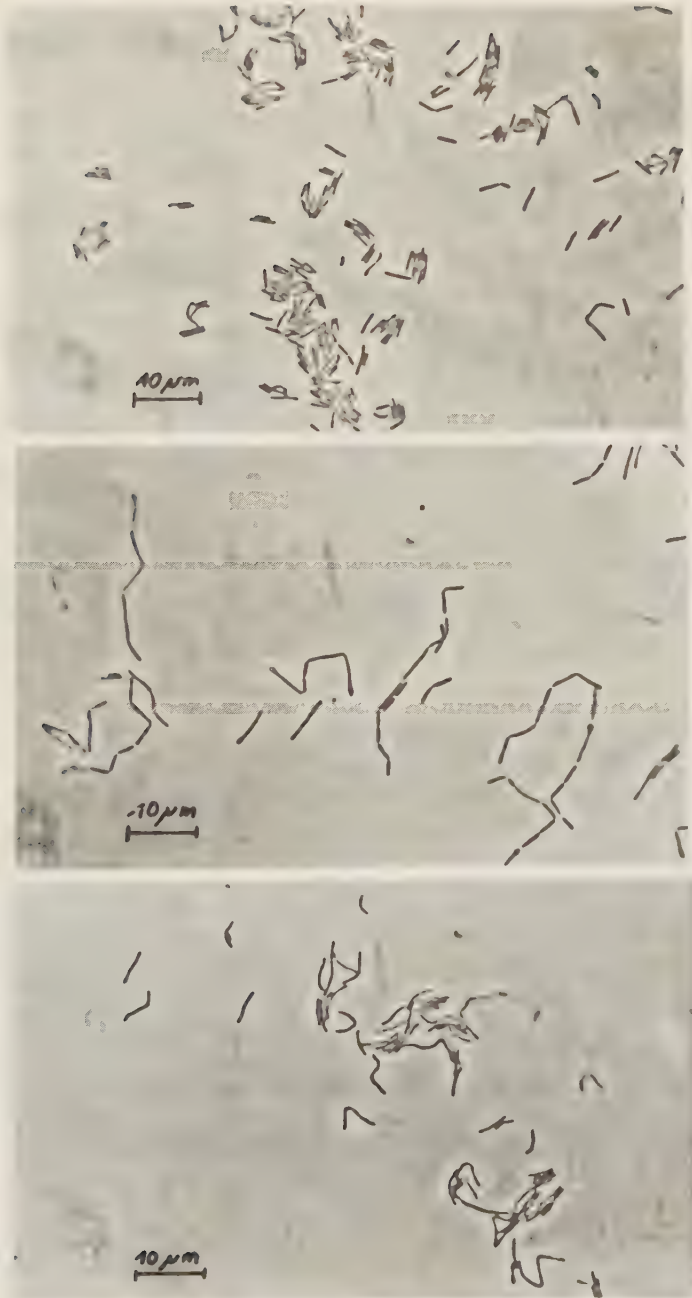


Abb. 34: Phasenkontrastmikroskopische Aufnahmen der Isolate S 6001, S 6025 und S 6026 (von oben nach unten)

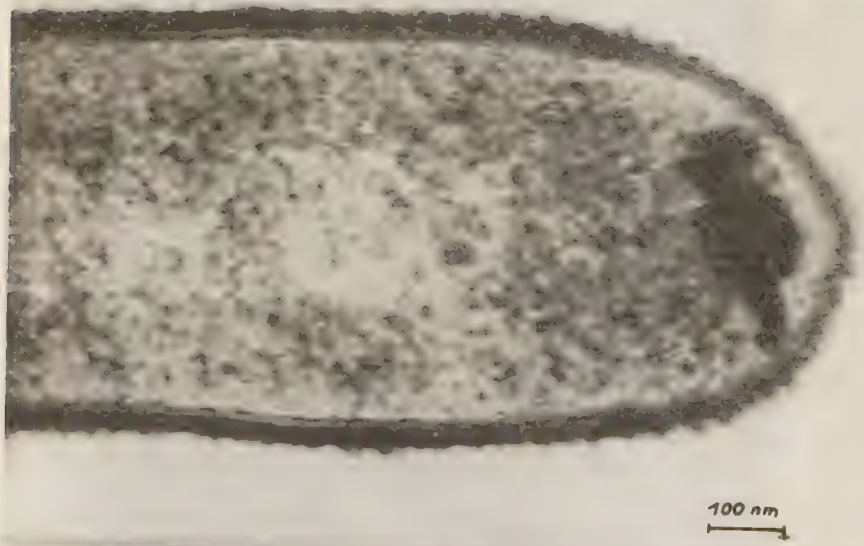


Abb. 35: Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Isolat S 6025

Hauptkomponenten der Fettsäuren der Isolate sind iso-verzweigte C₁₅ und C₁₇- Fettsäuren (Tab. 40). Zusätzlich treten noch anteiso- verzweigte C₁₅ und C₁₇- Fettsäuren in signifikanten Mengen auf.

Vor allem hinsichtlich der iso- verzweigten Fettsäuren zeigen die Isolate Ähnlichkeit mit einer Gruppe thermophiler Bacillus-Arten (*B.caldolyticus*, *B.caldotenax*, *B.stearothermophilus*), die nach Kaneda (1977) ebenfalls überwiegend iso- verzweigte Fettsäuren mit einer Kettenlänge von C₁₄-C₁₇ mit C₁₅ als Hauptkomponente besitzen.

Tab. 40:Fettsäurezusammensetzung der Isolate S 6025 und S 6026

Stamm	Fettsäure %											
	verzweigt						unverzweigt					
	anteiso		iso									
	15:0	17:0	13:0	14:0	15:0	16:0	17:0	14:0	15:0	16:0	17:0	
S 6025	5,6	8,9	0,0	1,2	<u>39,3</u>	<u>13,4</u>	<u>30,4</u>	0,0	0,0	1,2	0,0	
S 6026	2,6	7,0	0,1	0,1	<u>34,2</u>	6,4	<u>45,8</u>	0,2	1,6	0,7	0,3	

Der G+C- Gehalt der DNS der Isolate S 6001, S 6025 und S 6026 liegt im Bereich von 42-44 mol%. DNS/DNS- Hybridisierungen ergeben hohe Homologiewerte (73-82%), die eine gemeinsame Artzugehörigkeit der Stämme anzeigen (Tab. 41).

Tab. 41: G+C- Gehalt der DNS und DNS/DNS- Homologie der Isolate

	mol% G+C		% Homologie		
	T _m ¹	HPLC ²	S 6001	S 6025	S 6026
S 6001	42,8	41,9	-		
S 6025	43,5	42,1	73	-	
S 6026	43,7	41,7	73	82	-

1) Bestimmung durch thermische Denaturierung

2) Bestimmung der Nucleotide nach HPLC- Trennung

In ihrem relativ niedrigen G+C- Gehalt unterscheiden sich die Isolate sehr deutlich von einer Reihe obligat thermophiler *Bacillus*-Arten, deren G+C- Gehalt durchwegs über 50 mol% liegt. Aus diesem Grund kann eine Zugehörigkeit der Isolate zu folgenden gültig beschriebenen Arten ausgeschlossen werden: *B.schlegelii* (67-68 mol% G+C; Schenk und Aragno, 1979), *B.acidocaldarium* (62 mol% G+C, Darland und Brock, 1971), *B.tusciae* (57-58 mol% G+C, Bonjour und Aragno, 1984), *B.stearothermophilus* (Typstamm: 51,9 mol% G+C, vgl. Fahmy et al., 1985).

Durch DNS/DNS - Hybridisierung konnte eine Zugehörigkeit zu *B. thermoglucosidasius* (45-46 mol% G+C; Suzuki et al., 1983) ebenso ausgeschlossen werden wie zu anderen mesophilen *Bacillus*-Arten, deren G+C- Gehalt in einem Bereich von etwa 40- 45% liegt. Allenfalls zu *B.pallidus* konnte wenn auch nur in einem Fall- eine geringe Verwandtschaft festgestellt werden (Tab. 42). Gravierende phänotypische Unterschiede machen jedoch eine Zuordnung der Isolate zu

B.pallidus ebenso unmöglich wie zu *B.coagulans* und *B.brevis*, deren G+C- Gehalt dem der Isolate noch relativ nahekommt, und die ebenfalls noch bei hohen Temperaturen wachsen (Tab. 43).

Die Isolate S 6001, S 6025 und S 6026 unterscheiden sich also auf Grund phänotypischer und genotypischer Merkmale deutlich von allen bisher beschriebenen *Bacillus*- Arten und sind demnach als eine eigenständige Art neu zu beschreiben. Als Hinweis auf Herkunft und thermophile Eigenschaften der Stämme wird der Name "*B.thermocloacae*" vorgeschlagen.

Tab. 42: G+C- Gehalt der DNS und DNS/DNS- Homologie von Vergleichsstämmen mit den Isolaten S 6025 und S 6026

Art	mol% G+C	% Homologie	
		S 6025	S 6026
<i>B.thermoglucosidasius</i> DSM 2524	45,5 ¹	38	43
<i>B.pallidus</i>	39-41 ²	39-59	21-43
<i>B.subtilis</i> DSM 10 *	42,9 ³	35	26
<i>B.pumilus</i> DSM 27 *	41,9 ³	28	43
<i>B.megaterium</i> DSM 32 *	37,3 ³	22	25
<i>B.licheniformis</i> DSM 13 *	46,4 ³	38	43

1) Suzuki et al., 1983

2) Scholz et al., 1986

3) Fahmy et al., 1985

*) Typstamm

Tab. 43 : Vergleich phänotypischer Eigenschaften der Isolate
("B.thermocloacae") mit denen von B.coagulans,
B.brevis und B.pallidus

	B.coagulans ²	B.brevis ²	B.pallidus ³	"B.thermocloacae"
G+C mol % ¹	47,1	47,3	39-41	42-44
T max (°C)	55	ca.55	70	ca.65
anaerobes Wachstum	+	-	-	-
Säure aus Glucose	+	d	+	-
Hydrolyse von Stärke	+	+	w	-
Casein	d	+	-	-
Gelatine	-	+	-	-
Nitratreduktion	d	d	-	-
Menachinontyp	7/0	7/0	7/0	7/0+8/0
Hauptkomponente der Fettsäuren	o	ante iso	unver- zweigt	iso
		15:0	16:0	15:0/17:0

1) Fahmy et al., 1985

2) Claus und Berkeley, 1986

3) Scholz et al., 1986

+ = positiv

w = schwach positiv

- = negativ

d = unterschiedliche
Reaktion

o = nicht bestimmt

Kurzbeschreibung von "B.thermocloacae"

Regelmäßige, Gram-positive Stäbchen, Größe 0,5-0,8x3-8 µm
Zellen einzeln oder in Ketten, unbeweglich;

Sporen oval, subterminal-terminal, Sporenmutterzelle deutlich aufgetrieben;

Kolonien: beige, flach-kegelig, 2-8 mm Ø, opaque-durchscheinend, glatt-grieselig;

Besitz von Katalase und Oxidase;

strikt aerob; keine Säurebildung aus Glucose, Fructose, Saccharose, Maltose, Trehalose;

kein Abbau von Casein, Gelatine, Stärke, Cellulose
schwache NH₃- Bildung aus Pepton;

Temperaturoptimum: 55°C;

pH- Optimum: 8-9;

Chemotyp des Peptidoglycans: m-DAP- direkt quervernetzt (A 1~~8~~);

Haupt- Menachinontyp: MK 7/0 und MK 8/0 (jeweils etwa 40-50%)

Haupt- Fettsäuren: 70-80% iso-verzweigte Fettsäuren (15:0, 17:0)
10-15% anteiso-verzweigte Fettsäuren (15:0, 17:0)

G+C- Gehalt der DNS: 42,8 - 43,7 mol% G+C (T_m)
41,7 - 42,1 mol% G+C (HPLC)

Isolat S 6022

Morphologische und physiologische Eigenschaften

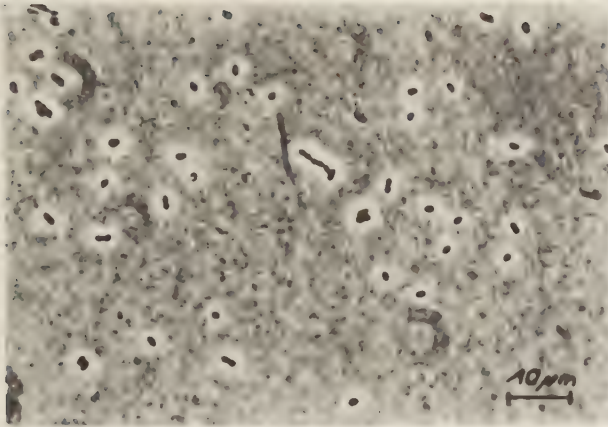
Dieses Isolat zeichnet sich durch eine außerordentliche morphologische Variabilität aus. Seine Form reicht von relativ regelmäßigen, coccoiden Kurzstäbchen in Primärkulturen über keulige, oft Hundeknochen ähnliche Formen in 1- 3 Tagen alten Flüssigkulturen bis hin zu sehr unregelmäßigen, tropfenförmigen bis stark aufgeblähten Zellformen bei Wachstum in glucosefreien Medien (Abb. 36).

Elektronenmikroskopische Aufnahmen bestätigen diese Formenvielfalt von coccoiden Stäbchen über Kartoffeln ähnliche bis hin zu keuligen Formen (Abb. 37 - 39). Eine Besonderheit ist das Auftreten lamellenartiger Strukturen im Zellinneren (Abb. 38 und 39), bei denen es sich offenbar um quergeschnittene Stapel von Membransystemen handelt und deren Funktion bislang vollkommen ungeklärt ist.

S 6022 ist Gram-positiv, wächst strikt aerob, besitzt Katalase und Oxidase und baut Stärke ab. Das Temperatur-optimum des Wachstums liegt bei ca. 55°C, das pH- Optimum liegt bei etwa 8,5.

G+C- Gehalt der DNS

Der G+C- Gehalt von Isolat S 6022 wurde zu 66,3 mol% G+C (T_m) bzw. 65,7 mol% G+C (HPLC) bestimmt.



Primärkultur



Flüssigkultur



Flüssigkultur
auf Glucose-
freiem Medium

Abb. 36: Phasenkontrastmikroskopische Aufnahmen von S 6022



Abb. 37: Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Dünnschnitten von Isolat S 6022

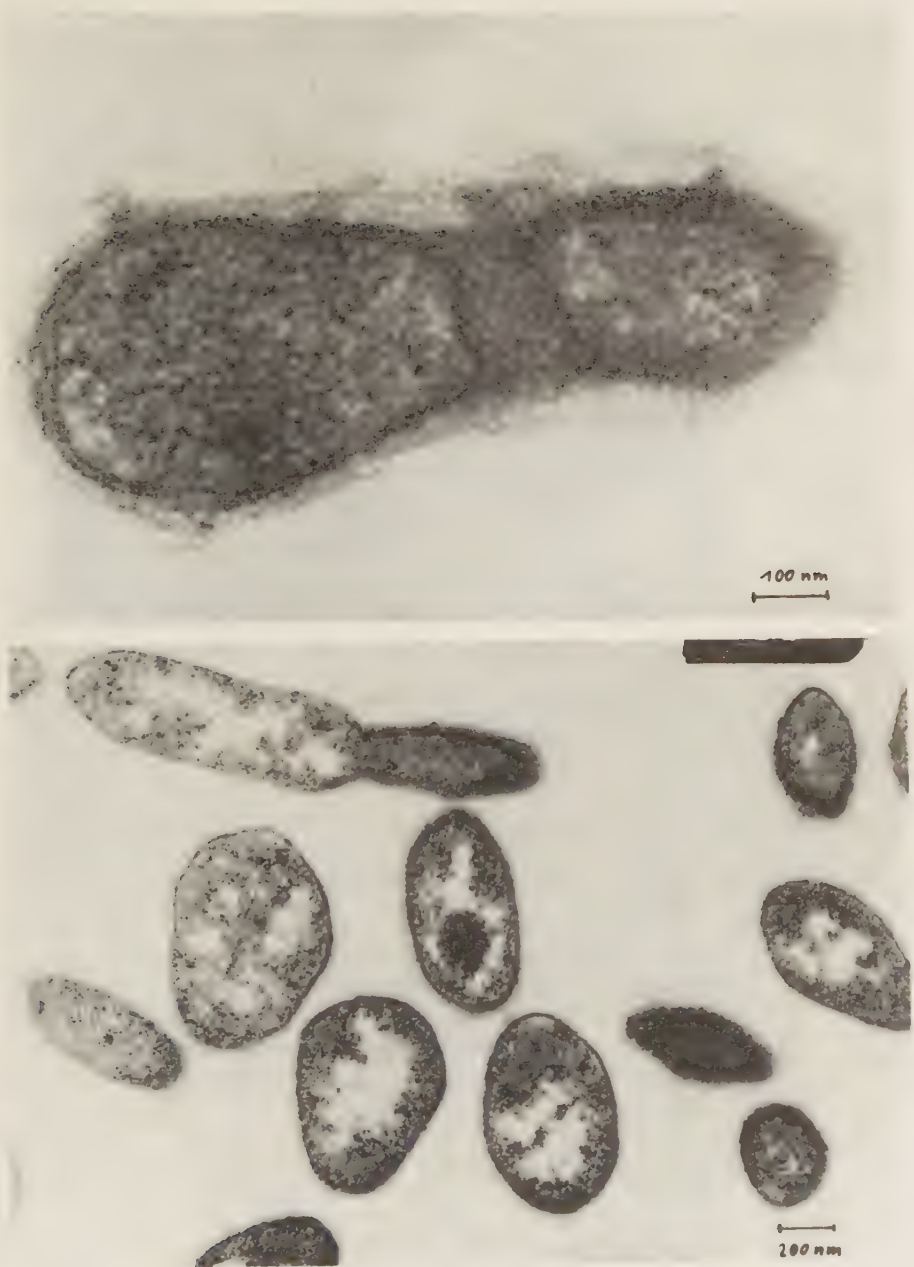


Abb. 38: Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Dünnschnitten von Isolat S 6022

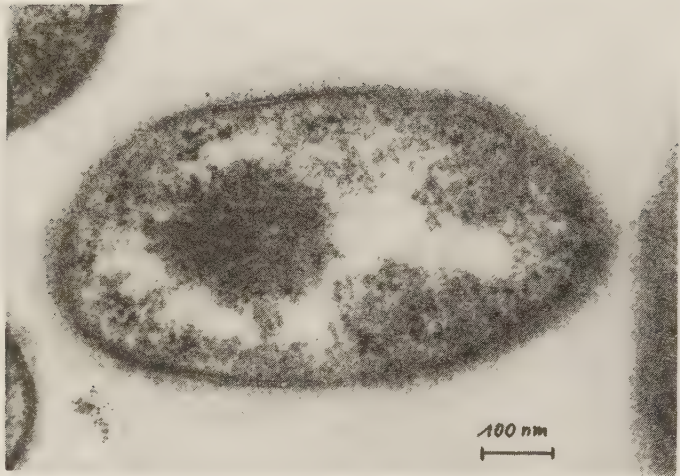


Abb. 39: Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Dünnschnittes von Isolat 6022

Isoprenoid-Chinon-Typ

Hauptkomponente der Isoprenoid-Chinone ist das ungesättigte Menachinon mit 8 Isopreneinheiten (MK 8/0). Daneben kommen MK 6/0, MK 7/0 und MK 10/0 in signifikanten Mengen vor. Mit einem Anteil von insgesamt knapp 3% treten darüber hinaus auch die partiell gesättigten Menachinone MK 6/2, MK 7/2, MK 8/2 und MK 10/2 auf (Tab. 44).

Tab. 44: Menachinonzusammensetzung von Isolat S 6022

Menachinontyp	Anteil (%)
MK 6/0	4,8
MK 6/2	1,8
MK 7/0	7,7
MK 7/2	0,4
MK 8/0	<u>70,3</u>
MK 8/2	0,4
MK 9/0	1,6
MK 10/0	<u>12,8</u>
MK 10/2	0,2

Fettsäurezusammensetzung

Die Hauptkomponente der Fettsäuren (72%) konnte bisher noch nicht mit Sicherheit identifiziert werden. Sehr wahrscheinlich handelt es sich um 10-Methyl- verzweigte Octadecansäure. 14% der Fettsäuren macht geradkettige Octadecansäure aus (Tab. 45).

Tab. 45: Fettsäurezusammensetzung von Isolat S 6022

Fettsäure	Anteil (%)	
unverzweigt	14:0	0,8
	15:0	0,2
	16:0	3,9
	17:0	0,4
	18:0	<u>13,7</u>
iso verzweigt	15:0	0,6
	17:0	0,4
anteiso verzweigt	15:0	0,2
	17:0	0,2
10-Methyl- verzweigt	16 Me	3,1
	17 Me	4,3
	18 Me (?)	<u>72,2</u>

Peptidoglycanstruktur

Um saubere Zellwände von Isolat S 6022 zu erhalten, mußten die nach den üblichen Methoden (Schleifer und Kandler, 1972) präparierten Zellwände nachgereinigt werden. Dazu wurden die tryptisch verdauten Zellwände mit BrCN inkubiert (12h/20°C) und danach jeweils mehrmals mit SDS und Wasser gewaschen. Die auf diese Weise erhaltene Zellwand enthält neben den "gängigen" Zellwand-Aminosäuren Alanin, Ornithin und Glutaminsäure eine weitere Ninhydrin-positive Substanz (Abb. 40), die sich bei verschiedenen chromatographischen Trennverfahren (Cochromatographie im 2-dimensionalen Papierchromatogramm, Dünnschichtchromatographie, Aminosäureanalysator) wie β -Alanin verhält (Tab. 46, Abb. 40). Daß es sich bei Substanz "X" tatsächlich um β -Alanin handelt, das bislang noch nie als Mureinbestandteil beschrieben wurde, konnte schließlich mit Hilfe der Massenspektrometrie bestätigt werden. Der Hauptpeak im Massenspektrum der Substanz "X" bei $M = 90$ repräsentiert die Molmasse von β -Alanin (89 g/mol), das mittels direkter chemischer Ionisation durch H^+ ionisiert ist (Abb. 41). Auch hinsichtlich der weiteren Massenpeaks bei $M = 72$ und $M = 89$ erweist sich Substanz "X" als identisch mit β -Alanin. Die Massenpeaks bei $M = 98$, $M = 114$ und $M = 128$ treten im Massenspektrum der Reinsubstanz β -Alanin nicht auf, sondern stellen offensichtlich Massenpeaks von Substanzen dar, die als Verunreinigung mit β -Alanin aus den Papierchromatogrammen eluiert wurden.

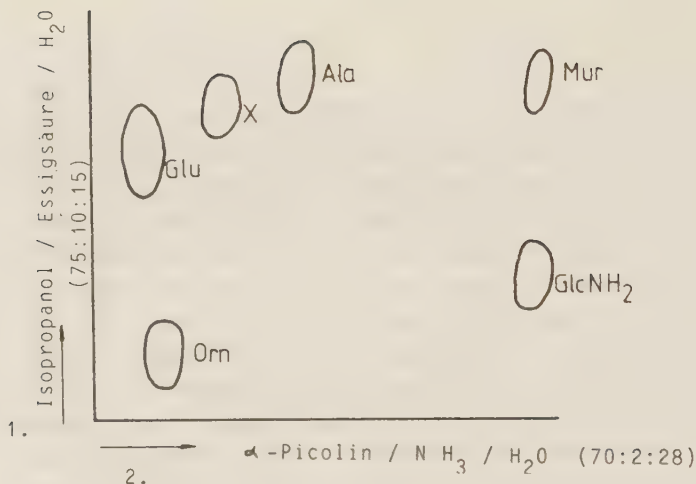


Abb. 40: 2-dimensionale Trennung des Zellwand-Totalhydrolysates von Isolat S 6022 (bei Cochromatographie von ZW-TH und β -Alanin läuft dieses an die Position "X")

Tab. 46: Vergleich der Substanz "X" mit β -Alanin durch Dünnschichtchromatographie, Aminosäureanalysator und Massenspektrometrie

	Substanz "X"	authentisches β -Alanin
R _f DC auf Cellulose MN 300 ¹	46	46
Retentionszeit ²	65 min	65 min
Hauptpeak im Massenspektrometer	90	90

1) Laufmittel: Methanol/Pyridin/H₂O = 20/1/1,5 (Niederwieser, 1977)

2) Elutionsprogramm des Aminosäureanalysators Liquimat III (Kontron)

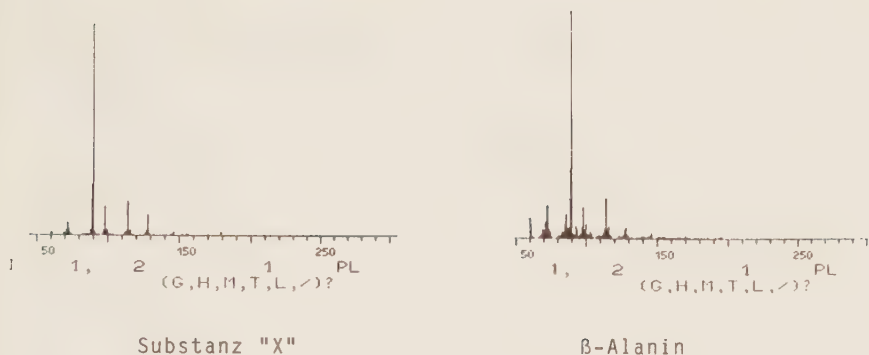


Abb. 41: Vergleich der Massenspektren von β-Alanin und Substanz "X"; beide Proben aus gleich behandelten Papierchromatogrammen eluiert

Die quantitative Untersuchung des Mureins von S 6022 ergab folgende Molverhältnisse:

Glu:Orn:β-Ala:Ala:Mur:GlcNH₂ = 1:1,1:1,2:1,6:0,9:1,1.

Ornithin liegt vollständig, Alanin zu 42% in der L-Konfiguration vor. Als einzige Aminosäure ist in der Zellwand β-Alanin dinitrophenylierbar.

Durch Partialhydrolyse der Zellwand erhaltene Peptide wurden durch 2-dimensionale Papierchromatographie aufgetrennt (Abb. 42). Nach Elution und Totalhydrolyse der Peptide wurde deren Aminosäurezusammensetzung bestimmt (Tab. 47).

Tab. 47: Molare Verhältnisse der Aminosäuren in ZW-Peptiden von S 6022

Peptid	Glu	Ala	Orn	β-Ala
6	-	2,1	1,2	0,8
7	-	1,1	0,8	1,1
8	1,0	1,0	2,1	0,9
9	0,8	1,1	1,2	1,0

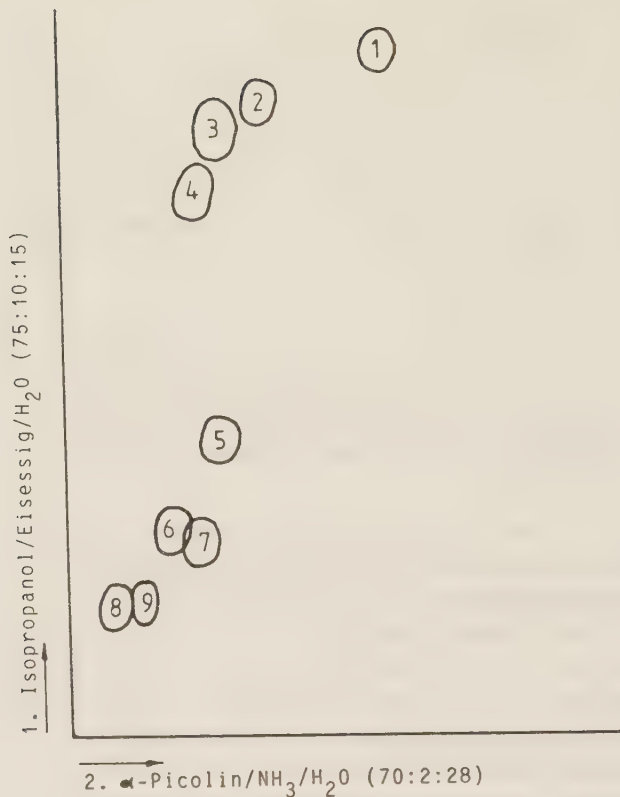


Abb. 42: 2-dimensionale Trennung eines Partialhydrolysates der Zellwand von Isolat S 6022

1 = D,L-Ala, 2 = B-Ala, 3 = L-Ala-D-Glu, 4 = D-Glu,
5 = L-Orn, 6-9 = Peptide (siehe Tab. 47)

Aus den Molverhältnissen, der Dinitrophenylierbarkeit, den Konfigurationsbestimmungen und dem Peptidmuster des Partialhydrolysates läßt sich eine Peptidoglycanstruktur ableiten, die in Abb. 43 dargestellt ist. Von strukturentscheidender Bedeutung sind die Peptide Nr. 6 und Nr. 8, die jeweils die komplette Aminosäuresequenz der Quervernetzung zweier Peptid-

untereinheiten enthalten. Auch die beiden anderen Peptide Nr. 7 und Nr. 9 sind mit der vorgeschlagenen Struktur vereinbar.

Somit liegt bei Isolat S 6022 ein neuer Peptidoglycantyp der Variation A3B vor. Dabei ist Ornithin an Position 3 einer Peptiduntereinheit über β -Alanin als Interpeptidbrücke mit D-Alanin an Position 4 einer benachbarten Peptiduntereinheit querverknüpft.

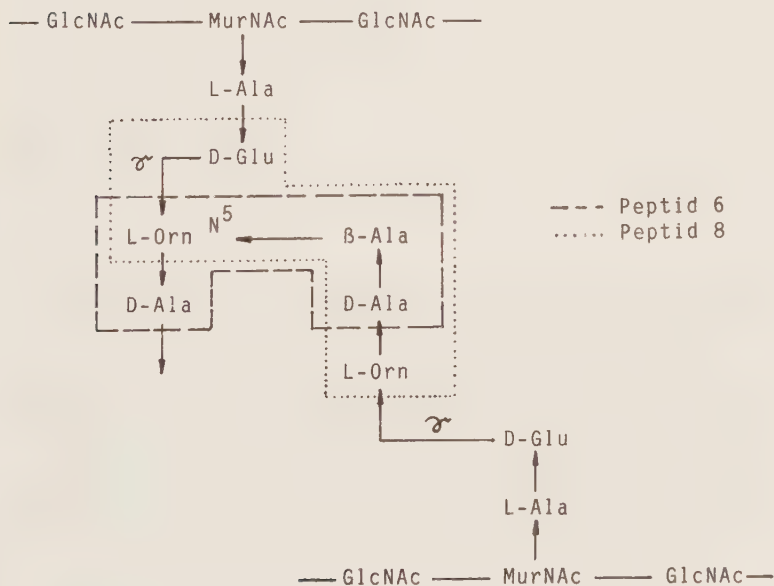


Abb. 43: Peptidoglycanstruktur von Isolat S 6022 mit Angabe der strukturentscheidenden Peptide

Taxonomische Zuordnung

Isolat S 6022 weist eine bisher nicht beschriebene Kombination morphologischer, physiologischer, biochemischer und genetischer Merkmale auf.

Strikt aerobe, Gram-positive, coccoide Stäbchen mit einem G+C- Gehalt der DNS von 66 mol% G+C können verschiedenen Gattungen zugeordnet werden: *Micrococcus* (66-75 mol% G+C), *Arthrobacter* (60-72 mol% G+C), *Cellulomonas* (72 mol% G+C). Eine Einordnung von Isolat S 6022 in eine dieser Gattungen ist jedoch auf Grund der Peptidoglycan-Struktur auszuschließen: Micrococccen besitzen L-Lysin, *Arthrobacter*-Stämme entweder L-Lysin oder L, L-DAP als Diaminosäure im Murein. *Cellulomonas* weist zwar L-Orn an Position 3 der Peptiduntereinheit auf, aber in der Interpeptidbrücke tritt entweder D-Asp oder D-Glu auf. Darüber hinaus konnte die für diese Gattung typische cellulolytische Aktivität bei Isolat S 6022 nicht nachgewiesen werden.

Aus diesen Gründen wird vorgeschlagen, Isolat S 6022 als bisher einzigen Vertreter einer neuen Gattung "*Sphaerobacter thermophilus*" gen. et sp. nov. innerhalb der coryneformen Bakterien zu beschreiben.

Weitere Hinweise auf die taxonomische Stellung dieser Gattung wird von der Teilsequenzierung der ribosomalen 16 S rRNS des Isolates erwartet, die derzeit von E. Stackebrand durchgeführt wird.

Kurzbeschreibung von "Sphaerobacter thermophilus"

Gram-positive Coccen-coccoide Stäbchen, 1-1,5 x 1,5-3 µm

in alten Kulturen längere, unregelmäßige Zellformen

unbeweglich

keine Bildung von Endosporen

Kolonien: 1-2 mm Ø, glatt, beige, opaque, cremig

Besitz von Katalase und Oxidase

strikt aerob

Temperaturoptimum: ca. 55°C

pH- Optimum: 8-9

Abbau von Stärke, kein Abbau von Gelatine, Casein, Zellulose

Chemotyp des Peptidoglycans: Pos. 3: L-Ornithin, Inter-peptidbrücke: β-Alanin (Variation: A3B)

Menachinontyp: 70,3 % MK 8/0; 12,8 % MK 10/0; Spuren partiell gesättigter Menachinone MK 6/2 - MK 10/2

G+C- Gehalt der DNS: 66,3 mol% (T_m), 65,7 mol% (HPLC)

Isolat S 6042

Dieser Stamm konnte als einziger einer bereits beschriebenen Art zugeordnet werden.

S 6042 bildet runde Endosporen, die das Sporangium leicht anschwellen lassen (Abb. 44). Dieser morphologische Hinweis auf die Art *B.sphaericus* bestätigte sich durch Zellwanduntersuchungen. Als Diaminosäure liegt im Murein vegetativer Zellen von S 6042 L-Lysin vor. Die Zellwand-Aminosäuren liegen in einem Molverhältnis Glu:Lys:Asp:Ala = 1:0,7:0,6:1,8 vor. Dies spricht für den Zellwandtyp, der innerhalb der Gattung *Bacillus* für die Art *B.sphaericus* typisch ist (L-Lys an Position 3 der Peptiduntereinheit, D-Asp in der Interpeptidbrücke). Diese Struktur wurde durch das Auftreten von ϵ - (Aminosuccinyl)- Lysin auf Papierchromatogrammen von Zellwandhydrolysaten bewiesen.

Der G+C- Gehalt der DNS von S 6042 liegt mit 41,1 mol% G+C (T_m) bzw. 40,2 mol% G+C (HPLC) zwar deutlich über dem Bereich von 34-37 mol%, der von Krych et al. (1970) für diese Art angegeben wird, dennoch zeigt S 6042 rund 75% DNS/DNS- Homologie mit *B.sphaericus* DSM 463 (Tab. 48).

Die sehr geringe Homologie mit einer Reihe anderer *B.sphaericus*- Stämme braucht nicht zu überraschen, da in dieser Art eine Vielzahl genetisch sehr unterschiedlicher Stämme zusammengefaßt ist (Krych et al., 1970; Stephan et al., 1983).

Tab. 48: DNS/DNS-Homologie zwischen Isolat S 6042 und verschiedenen thermophilen und mesophilen Vertretern von *B.sphaericus*

Stamm	% Homologie mit S 6042
<i>B.sphaericus</i> DSM 461 ¹	4
" DSM 463 ¹	74
" DSM 28* ²	17
" DSM 1867 ²	10
" DSM 2368 ²	22
" DSM 2369 ²	30

1) thermophile Stämme

2) mesophile Stämme

*) Typstamm

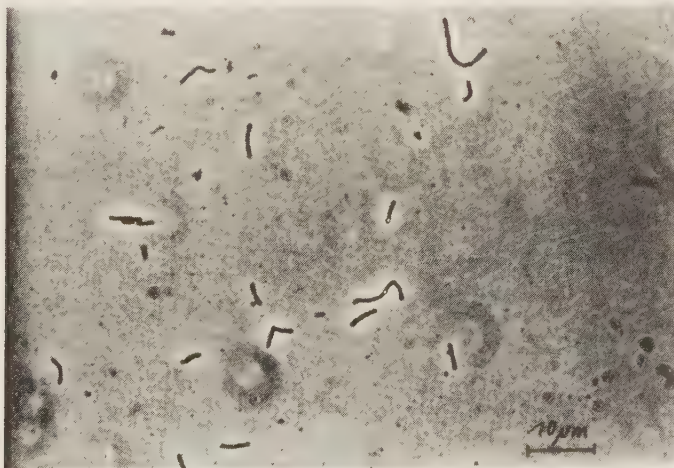


Abb. 44: Phasenkontrastmikroskopische Aufnahme von Isolat S 6042

4.2.1.4. Keimzahlbestimmung in den Laboranlagen mit Hilfe der Immunfluoreszenzmethode

Um zu prüfen, welchen Anteil die in den vorausgehenden Abschnitten charakterisierten Hauptvertreter der Mikroflora unserer Laboranlagen in verschiedenen Praxisanlagen zur aerob- thermophilen Schlammstabilisierung haben, wurden Antiseren gegen diese Isolate (Thermus-, Bacillus-Stämme, coryneformes Isolat) sowie gegen einen B.sphaericus-Stamm (Stamm Ga; isoliert aus der Stabilisierungsanlage Gemmingen) gewonnen. Zur Überprüfung der Spezifität der Antiseren wurde ebenso wie bei den späteren Keimzahlbestimmungen- die Immunfluoreszenzmethode angewandt. Dabei wird die Immunreaktion, also das Vorliegen Antigen- gebundener Antikörper, durch die Reaktion des Antigen-Antikörper-Komplexes mit einem FITC-markierten anti-Antikörper im Fluoreszenzmikroskop nachgewiesen (Tab. 49).

Die Antiseren zeigen keine signifikante Reaktion mit Stämmen anderer Bakterienarten als der, der das homologe Antigen angehört. In manchen Fällen wurde zwar auf der Oberfläche lysierter Bacillus-Zellen eine leichte, punktförmige Fluoreszenz beobachtet, derartige Bilder waren jedoch gut von der positiven Reaktion zwischen homologem Antigen und Antikörper zu unterscheiden, bei der jeweils die gesamte Zelloberfläche homogen fluoresziert. Teilweise reagieren die Antiseren außer mit dem homologen Antigen auch noch mit anderen Stämmen derselben Art: die Antiseren gegen T.ruber Stamm H1 und H2 reagieren jeweils mit allen 3 T.ruber-Isolaten. Ebenso reagiert Antiserum gegen B.pallidus H12 auch mit allen anderen B.pallidus-Stämmen. Antiserum gegen B.sphaericus S 6042 reagiert mit B.sphaericus Ga, allerdings zeigt das Antiserum gegen Stamm Ga nicht die inverse Kreuzreaktion mit Stamm S 6042. Auch die Antiseren gegen die "B.thermocloacae"- Stämme erwiesen sich als sehr spezifisch, da innerhalb dieser Gruppe kaum Kreuzreaktionen auftraten (Tab.49).

Tab. 49: Reaktion der Antiseren gegen die Isolate aus den Laboranlagen H und S mit anderen Stämmen der gleichen Art sowie mit Stämmen anderer Arten

Stamm	Antiseren gegen Stamm Nr.									
	1	9	10	13	14	15	16	18	19	21
1 <i>B.pallidus</i> H12	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2 H13	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3 H14	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4 H15	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5 H16	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6 <i>B.sphaericus</i> DSM 461	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7 DSM 493	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8 DSM 1867	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9 Ga	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
10 S 6042	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
11 <i>B.stearothermophilus</i> DSM 22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12 DSM 458	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13 H11	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
14 " <i>B.thermocloacae</i> " S 6001	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
15 S 6025	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
16 S 6026	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
17 <i>T.ruber</i> DSM 1279	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18 H1	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
19 H2	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
20 H3	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
21 S 6022 (" <i>S.thermophilus</i> ")	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

Keinerlei Reaktionen wurden mit folgenden Stämmen beobachtet:
"B.caldolyticus" DSM 405; *"B.caldotenax"* DSM 406; *"B.caldovelox"*
 DSM 411; *B.firmus* DSM 12; *B.licheniformis* DSM 13; *"B.thermodeni-*
trificans" DSM 466; *B.thermoglucoasidarius* DSM 2542; *T.aquaticus*
 DSM 625; *"T.thermophilus"* DSM 579

Der Nachweis, daß mit Hilfe der Immunfluoreszenz quantitative Keimzahlbestimmungen auch in heterogenen Substraten möglich sind, wurde in folgendem Kontrollversuch erbracht: 2,0 ml Aliquot einer Reinkultur von *B.stearothermophilus* (Stamm H 11) mit einem Titer von $2,8 \times 10^9$ /ml wurde in definiertem Verhältnis mit einer Schlammprobe gemischt, in der H 11 vorher nicht nachgewiesen werden konnte. Mit Hilfe der Immunfluoreszenz wurde dann unter Verwendung des Antiserums gegen Stamm H 11 dessen Keimzahl in dem Schlammgemisch bestimmt. Wie Tab. 50 zeigt, stimmen die durch Immunfluoreszenz bestimmten Keimzahlen sehr gut mit den theoretisch zu erwartenden Keimzahlen überein.

Tab. 50: Quantitative Keimzahlbestimmung von *B.stearothermophilus* H 11 mit Hilfe der Immunfluoreszenz in einer Reinkultur und im Schlammgemisch

Verdünnung der Reinkultur im Schlammgemisch	Keimzahl von H11/ml im Schlammgemisch	
	theoretisch erwartet	mit Immunfluoreszenz bestimmt
1 : 10	$2,8 \times 10^8$	$2,5 \times 10^8$
1 : 20	$1,4 \times 10^8$	$1,3 \times 10^8$

1) Titer der Reinkultur: $2,8 \times 10^9$ /ml

Die Tragfähigkeit der Immunfluoreszenzmethode für Keimzahlbestimmungen in Abwasser- und Schlammbehandlungsanlagen wurde auch an den beiden Laboranlagen überprüft (Tab. 51). Die Untersuchungen zeigen, daß in beiden Reaktoren die mit der Immunfluoreszenz bestimmte Keimzahlen der Isolate in der Regel hervorragend genau mit deren Lebendkeimzahlen übereinstimmen. Allerdings scheint die Immunfluoreszenz all-

gemein eher etwas niedrigere Werte zu liefern als nach den Lebendkeimzahlen zu erwarten wäre. Eine Erklärung für diese Diskrepanz ist unter Umständen in der Aggregation von Zellen während der Immunmarkierung zu suchen. So traten in einigen Fällen Zellklumpen in den Präparaten auf, die auch durch intensives Schütteln oder durch Ultraschallbehandlung der Proben nicht wieder vollständig aufgelöst werden konnten und damit zu geringeren Keimzahlen führten. Die relativ geringe Immunfluoreszenzkeimzahl von "*B.thermocloacae*" kann aber auch dadurch bedingt sein, daß in dem thermophil behandelten Schlamm mehr als 3 verschiedene Serotypen vorliegen, die aber morphologisch nicht differenziert werden konnten. Andererseits ergibt die Immunfluoreszenzmethode bei *B.sphaericus* S 6042 deutlich höhere Keimzahlen als die Bestimmung der Lebendkeimzahl dieses Stammes. Möglicherweise erlauben die Wachstumsbedingungen für die Lebendkeimzahlbestimmung keine quantitative Erfassung von S 6042.

Trotz dieser -eher als gering einzuschätzenden- Diskrepanzen zwischen den Keimzahlbestimmungen durch Plattierung und durch Immunfluoreszenz scheint letztere Methode geeignet zu sein, die Größenordnung der Keimzahlen einer komplexen Mikroflora mit relativ geringem Zeitaufwand zutreffend zu bestimmen. Die Methode ist offensichtlich auch in so heterogenen Substraten wie Klärschlamm anwendbar.

Voraussetzung für eine möglichst vollständige Analyse einer Mikroflora ist allerdings das Vorhandensein einer umfangreichen Antiserenbank. Die derzeit zur Verfügung stehenden Antiseren sollten jedoch für die Beantwortung der Fragestellung ausreichen, zu welchem Anteil die Mikroflora der Laboranlagen in den aerob-thermophilen Praxisanlagen zur Schlammstabilisierung vertreten ist.

Tab. 51 : Vergleich der Lebendkeimzahlen und der durch Immunfluoreszenz bestimmten Keimzahlen der Isolate in den Laboranlagen

Anlage	Isolat	Lebendkeimzahl/ml ¹	Immunmarkierte Zellen/ml ¹
Reaktor H	T. ruber H1 - H3	$5,1 \times 10^8 \pm 1,3 \times 10^8$	$4,5 \times 10^8 \pm 2,2 \times 10^8$
	B. pallidus H12 - H16	$2,0 \times 10^6 \pm 1,6 \times 10^6$	$1,8 \times 10^6 \pm 0,4 \times 10^6$
	B. stearrowthermophilus H11	$< 10^5$	$< 10^5$
Reaktor S	"B. thermocloacae" S 6001	} $2,8 \times 10^9 \pm 1,1 \times 10^9$	$1,0 \times 10^9 \pm 0,3 \times 10^9$
	" " S 6025		$0,4 \times 10^9 \pm 0,2 \times 10^9$
	" " S 6026		$0,5 \times 10^9 \pm 0,2 \times 10^9$
	"S. thermophilus" S 6022	$1,8 \times 10^9 \pm 1,4 \times 10^9$	$1,2 \times 10^9 \pm 0,2 \times 10^9$
	B. sphaericus S 6042	$0,4 \times 10^9 \pm 0,2 \times 10^9$	$1,5 \times 10^9 \pm 0,4 \times 10^9$
	Ga	-	$2,0 \times 10^7 \pm 1,3 \times 10^7$
	B. pallidus H11 - H16	-	$3,3 \times 10^7 \pm 3,0 \times 10^7$
	B. stearrowthermophilus H11	-	$4,5 \times 10^7 \pm 3,0 \times 10^7$

1) Mittelwert $\pm \sigma$; n = 4-5

4.2.2. Thermophile Mikroflora von Praxisanlagen zur aerob-thermophilen Schlammstabilisierung

Die mikrobiologischen Untersuchungen wurden im Zeitraum August/September 1984 an den kommunalen Schlammstabilisierungsanlagen Vilsbiburg, Gemmingen, Faßberg, Isenbüttel und GKW Nette durchgeführt. In Stichproben aus den thermophilen Reaktoren dieser Anlagen wurden Gesamtkeimzahl, physiologisch aktive Flora und Lebendkeimzahl, sowie -mit Hilfe der oben vorgestellten Immunfluoreszenzmethode die Keimzahl der aus der Laboranlage S isolierten Stämme bestimmt.

Die Mehrzahl der Anlagen arbeitete zum Zeitpunkt der Untersuchungen nach der heute für die aerob-thermophile Stabilisierung üblichen Betriebsweise: die beiden Reaktoren waren jeweils zu einer 2-stufigen Kaskade hintereinander geschaltet und wurden halbkontinuierlich mit täglicher Rohschlammzugabe betrieben. Eine Ausnahme stellte die Gemminger Anlage dar: dort wurde Reaktor II einmal pro Woche vollständig geleert; unter Niveauausgleich beider Reaktoren wurde Rohschlamm in Reaktor I gepumpt, bis beide Reaktoren wieder maximales Füllvolumen erreicht hatten.

Tab. 52 gibt einige Betriebsparameter der Anlagen zum Zeitpunkt der Probenahme wieder. Die Untersuchungen beziehen sich ausschließlich auf den Reaktor II der einzelnen Anlagen, da in der Regel nur dieser mehr oder weniger konstant thermophile Temperaturen erreicht.

Tab. 52: Betriebsparameter der thermophilen Reaktoren kommunaler Schlammstabilisierungsanlagen (August/September 1984)

	Faßberg	Isenbüttel	Vilsbiburg	GKW Nette	Gemmingen
Betrieb	halbkont.	halbkont.	halbkont.	halbkont.	diskont.
B_R (goTS/lxd)	2,2	2,6	3,8	8,0	2,6
t_R (d)	6	7,5	5	2,6	7
T_R (°C)	50-55	55-60	50-55	60-65	40-55

4.2.2.1. Bestimmung der Gesamtkeimzahl, physiologisch aktiven Flora und Lebendkeimzahl

Die Gesamtkeimzahl in den thermophilen Reaktoren liegt in einem relativ engen Bereich von $1-2,4 \times 10^{10}/\text{ml}$. Dagegen zeigen sich deutliche Unterschiede in der Zahl physiologisch aktiver Keime ($0,2 - 5 \times 10^9/\text{ml}$). In den Anlagen Isenbüttel Vilsbiburg, GKW Nette und Gemmingen macht die physiologisch aktive Flora nur weniger als 10% der Gesamtflora aus. Der hohe Anteil der aktiven Flora in der Gemminger Anlage scheint demnach für die Praxisanlagen eher eine Ausnahme darzustellen (Tab. 53). Auf Nährböden, die sich in den Laboruntersuchungen als gut geeignet für Lebendkeimzahlbestimmung in thermophil behandeltem Klärschlamm erwiesen hatten, konnten in 3 Praxisanlagen (Isenbüttel, Vilsbiburg, Gemmingen) lediglich 20-33% der aktiven Flora erfaßt werden. In der Faßberger Anlage macht die Lebendkeimzahl sogar nur 5% der physiologisch aktiven Flora aus und in der Anlage GKW Nette scheiterte die Analyse der Lebendkeimzahl völlig: hier war -bei 2 voneinander unabhängigen Bestimmungen- keinerlei Wachstum auf den Nährböden festzustellen (selbst bei Verdünnungsstufe 10^{-5} !) Dieses Ergebnis zeigt deutlich die Problematik von Lebendkeimzahlbestimmungen auf: ohne Optimierung der Bestimmungsmethoden ist die Aussagekraft derartiger Analysen sehr begrenzt.

Tab. 53: Gesamtkeimzahl, physiologisch aktive Flora und Lebendkeimzahl in thermophilen Reaktoren kommunaler Schlammstabilisierungsanlagen

	Faßberg	Isenbü.	Vilsbi.	GKW Nette	Gemmingen
Gesamt-keimzahl/ml	$1,0 \times 10^{10}$	$1,0 \times 10^{10}$	$2,4 \times 10^{10}$	$1,0 \times 10^{10}$	$1,7 \times 10^{10}$
physiologisch aktive/ml	$5,0 \times 10^9$	$0,2 \times 10^9$	$2,0 \times 10^9$	$0,7 \times 10^9$	$1,3 \times 10^9$
Lebendkeim- ¹⁾ zahl/ml	$2,5 \times 10^8$	$0,7 \times 10^8$	$4,0 \times 10^8$	-	$4,0 \times 10^8$

1) bestimmt auf Vollmedium/pH 8,5; Bebrütung bei Reaktortemp.

4.2.2.2. Immunologische Identifizierung und Keimzahlbestimmung einzelner Florenvertreter

Obwohl bisher nur eine relativ begrenzte Anzahl von Antisera gegen Mikroorganismen thermophiler Belebtschlämme zur Verfügung steht, konnten in den untersuchten Praxisanlagen etwa $1-8 \times 10^8$ Keime/ml mit Hilfe der Immunfluoreszenz identifiziert werden. Dies entspricht in den Anlagen Isenbüttel, GWK Nette und Vilsbiburg immerhin einem Anteil von rund 40-70% der physiologisch aktiven Flora der Reaktoren. Andererseits stellen die identifizierten Stämme in den Anlagen Faßberg und Gemmingen lediglich etwa 4 bzw. 7% der aktiven Flora (Tab. 54).

Die Mikroflora zweier Praxisanlagen (Isenbüttel und GWK Nette) ist der Mikroflora der Laboranlage insofern recht ähnlich, als neben "*B.thermocloacae*" als Hauptkeim auch noch "*Sphaerobacter thermophilus*" und *B.sphaericus* in relativ hohen Keimzahlen auftreten.

Während die Mikroflora der Laboranlage S eine klare Gliederung in eine Hauptflora (Keimzahl knapp 5×10^9 /ml) und eine etwa um den Faktor 10^2 zurücktretenden Hintergrundflora (Keimzahl knapp 8×10^7 /ml) erkennen läßt, konnte dies zumindest in den Praxisanlagen, in denen unsere Isolate einen großen Anteil der physiologisch aktiven Flora stellen, nicht festgestellt werden. *B.pallidus* und *B.stearothermophilus*, die diese Hintergrundflora in der Laboranlage stellen, haben besonders in der Anlage Vilsbiburg, aber auch in den Anlagen Isenbüttel und Nettetal einen durchaus signifikanten Anteil an der Mikroflora, die wir mit unseren Antisera erfassen konnten.

Tab. 54: Keimzahlbestimmung mit Hilfe der Immunfluoreszenz in den thermophilen Reaktoren
mehrerer kommunaler Schlammstabilisierungsanlagen; Vergleich dieser Anlagen mit der
Laboranlage S

Reaktion mit Antiserum gegen	Anlage		Keimzahl/ml					
	Faßberg	Isenbüttel	Nettetal	Vilsbiburg	Gemmingen	Laboranlage S		
"B.thermocloacae" S 6001	3,4x10 ⁶	0,8x10 ⁷	1,2x10 ⁷	0	1,7x10 ⁷	1,0x10 ⁹		
S 6025	0	1,5x10 ⁷	4,5x10 ⁷	0	1,4x10 ⁷	0,4x10 ⁹		
S 6026	2,1x10 ⁸	5,5x10 ⁷	6,5x10 ⁷	6,6x10 ⁸	1,4x10 ⁷	0,5x10 ⁹		
"S.thermophilus" S 6022	0	5,0x10 ⁷	1,6x10 ⁸	0	1,9x10 ⁷	1,2x10 ⁹		
B.sphaericus S 6042	1,0x10 ⁷	4,0x10 ⁷	1,0x10 ⁸	0	0,7x10 ⁷	1,5x10 ⁹		
B.pallidus H12 - H16	0	1,5x10 ⁷	3,5x10 ⁷	1,6x10 ⁸	0	3,3x10 ⁷		
B.stearothermophilus H11	0	0	7,0x10 ⁷	1,4x10 ⁷	0	4,5x10 ⁷		
Summe immunmarkierter Zellen	2,2x10 ⁸	1,8 x10 ⁸	4,9x10 ⁸	8,3x10 ⁸	0,7x10 ⁸	4,7x10 ⁹		
Anteil immunmarkierter Zellen an der physiologisch aktiven Flora (%) (s.Tab. 53)	4,4	51	70	42	5,4	94		

4.3. DISKUSSION

Für eine Optimierung und rationale Regulation von Stabilisierungsprozessen ist eine detaillierte Kenntnis der Einzelkomponenten der beteiligten Mikroflora und deren Stoffumsetzungen nötig. Voraussetzung dafür sind Florenanalysen, die einen möglichst hohen Anteil der physiologisch aktiven Mikroflora eines Systems erfassen. Neben den eher konventionellen Methoden zur Florenanalyse (Optimierung der Nährbodenbedingungen- Isolierung von Reinkulturen- taxonomische Beschreibung zumindest der Hauptflora) zeigt die vorliegende Arbeit Ansatzpunkte für eine modernere Methode der Florenanalyse in komplexen Gemischen, nämlich den Nachweis und die quantitative Bestimmung einzelner Florenvertreter mit Hilfe immunologischer Methoden.

Die bislang vorliegenden Florenanalysen an aerob-thermophil betriebenen Abwasser- und Schlammbehandlungsanlagen (von Steldern et al., 1974; Loll und Ottow, 1974; Sonnleitner und Fiechter, 1983; Ottow et al., 1984) geben keine Anhaltspunkte für die Größe der jeweils vorliegenden physiologisch aktiven Mikroflora. Insofern ist es schwer abzuschätzen, inwieweit die in diesen Untersuchungen isolierte und charakterisierte Mikroflora als repräsentativ für die untersuchten aerob-thermophilen Prozesse gelten kann. Insbesondere die teilweise sehr niedrigen Lebendkeimzahlen (im Bereich von 10^3 - 10^5 /ml), die von Steldern et al. (1974) sowie Ottow et al. (1984) ermittelten, lassen vermuten, daß diese Untersuchungen nur einen recht geringen Anteil der tatsächlich vorliegenden Mikroflora erfaßten.

Um für unsere Florenanalyse Anhaltspunkte für die Keimzahl der physiologisch aktiven Mikroflora zu erhalten, wurde die von Zimmermann et al. (1978) beschriebene Aktivitätsfärbung eingesetzt; die Bestimmung der sogenannten Aktivenkeimzahl erfolgte jeweils bei der Temperatur, bei

der die untersuchte Anlage betrieben wurde. Mit Hilfe dieser Bestimmung kann beurteilt werden, wie quantitativ die Mikroflora bei der Lebendkeimzahlbestimmung erfaßt wird.

Nach Optimierung von Medienzusammensetzung und Anzuchtbedingungen erhielten wir für die bei 60°C betriebenen Laboranlagen Lebendkeimzahlen von 5×10^8 /ml (Hefeabwasser-Anlage) und 5×10^9 /ml (Klärschlamm-Anlage) - entsprechend einem Anteil von rund 45% beziehungsweise 60% an der physiologisch aktiven Flora. Damit war ein Großteil der jeweils vorliegenden Mikroflora einer taxonomischen Charakterisierung zugänglich.

Ein Vergleich der Mikrofloren der mit Hefeabwasser beziehungsweise Klärschlamm betriebenen Laboranlagen macht deutlich, daß sich gravierende Unterschiede in der Zusammensetzung aerob-thermophiler Mikrofloren in Abhängigkeit von dem jeweils behandelten Substrat ergeben. So wurden als Hauptflora der mit Hefeabwasser betriebenen Anlage Gram-negative Mikroorganismen isoliert, die als Angehörige der Gattung *Thermus* identifiziert und der moderat thermophilen Art *T.ruber* zugeordnet werden konnten. Bacillen treten in dieser Anlage nur mit einem Anteil von weniger als 1 % an der physiologisch aktiven Flora auf. Bei dieser Untergrundflora handelt es sich um Vertreter der Arten *B.pallidus* (Scholz et al., 1986) und *B.stearothermophilus*.

Demgegenüber setzt sich die Hauptflora der mit Klärschlamm betriebenen Laboranlage vorwiegend - aber nicht ausschließlich- aus Vertretern der Gattung *Bacillus* zusammen. Die Mehrzahl der *Bacillus*-Stämme -entsprechend 34% der physiologisch aktiven Flora- konnte einer neu zu beschreibenden Art "*B.thermocloacae*" zugeordnet werden. Eine Minderheit -entsprechend 5 % der aktiven Flora- wurde als *B.sphaericus* identifiziert.

Immerhin 22% der physiologisch aktiven Flora werden von einem strikt aeroben, Gram-positiven Keim gestellt, der nicht der Gattung *Bacillus* zugeordnet werden kann. Die bio-

chemischen Merkmale dieses Stammes, vor allem der Besitz eines bisher nicht beschriebenen, β -Alanin-haltigen Mureins, lassen keine taxonomische Zuordnung zu einer bisher beschriebenen Art und Gattung zu. Daher wird vorgeschlagen, dieses Isolat als "*Sphaerobacter thermophilus*", einer neuen Art und Gattung innerhalb der coryneformen Bakterien zu beschreiben.

Um zu prüfen, inwieweit die Flora des mit Klärschlamm betriebenen Laborreaktors als repräsentativ für das Biotop der aerob-thermophilen Klärschlammstabilisierung angesehen werden kann, wurden vergleichende Untersuchungen an aerob-thermophil betriebenen Reaktoren verschiedener Praxisanlagen zur Schlammstabilisierung durchgeführt.

Für die Identifizierung der Mikroflora dieser Anlagen bedienen wir uns der Immunfluoreszenzmarkierung unter Verwendung spezifischer Antiseren gegen die aus den Laboranlagen isolierten Stämme. Die immunologische Analyse bietet den Vorteil einer in situ-Identifizierung, der gerade bei der Differenzierung von Mikrofloren zum Tragen kommt, deren Stämme -wie offensichtlich ein Großteil der aerob-thermophilen Flora- durch normale Anzuchtmethoden nicht zu erfassen sind (vgl. dazu Macario und Conway de Macario, 1985, sowie Conway de Macario und Macario, 1985).

Bei einer in situ-Differenzierung entfallen zeitraubende Optimierungsarbeiten für repräsentative Lebendkeimzahlbestimmungen. Wie wir mit Kontrollexperimenten zeigen konnten, stellt die angewandte Immunfluoreszenztechnik eine schnelle und durchaus zuverlässige Methode dar, Mikrofloren selbst in so heterogenen Substraten wie Klärschlamm zu analysieren. Mit Hilfe dieser Methode konnte gezeigt werden, daß die Mikroflora in 3 der untersuchten Praxisanlagen (Isenbüttel, GWK Nette, Vilsbiburg) zu 40-70% mit der Flora übereinstimmt, wie sie in der Laboranlage analysiert wurde. Es fällt jedoch auf, daß in den Praxisanlagen keine so scharfe Differenzierung zwischen Haupt- und Hintergrundflora wie in der Laboranlage möglich ist. Offensichtlich begünstigen die oft schwankenden Betriebsbedingungen einer Praxisanlage eine

breitere Florenzusammensetzung, während die Ausprägung einer eindeutigen Hauptflora in der Laboranlage wohl als Folge einer spezifischen Adaptation anzusehen ist, die nur unter steady-state Bedingungen möglich ist.

Nicht repräsentativ scheint dagegen die Flora der Laboranlage für die Anlagen von Gemmingen und Faßberg zu sein (Übereinstimmung nur zu 4-6%). Bei der Gemminger Anlage dürfte dies eine Folge der diskontinuierlichen Betriebsweise sein, die verhindert, daß sich eine stabile thermophile Mikroflora im Reaktor einstellt. Der Grund dafür, daß die Mikroflora der Laboranlage nur einen geringen Teil der Mikroflora in der Faßberger Anlage stellt, liegt möglicherweise in dem in Faßberg anfallenden Rohschlamm: dieser weist offensichtlich als Folge von beträchtlichem Fäkalschlammeintrag in die Kläranlage- mit rund 80% einen untypisch hohen organischen Anteil an der Trockensubstanz auf.

Abgesehen von dieser Ausnahme kann die Mikroflora des Laborfermenters insgesamt doch als repräsentativ gelten für den Prozess der aerob-thermophilen Schlammstabilisierung unter mehr oder weniger konstanten Betriebsbedingungen.

"*B.thermocloacae*" ist demnach die am weitesten verbreitete und am häufigsten auftretende Art dieser aerob-thermophilen Mikroflora. "*Sphaerobacter thermophilus*", *B.sphaericus*, *B.pallidus* und *B.stearothermophilus* spielen dagegen eine etwas untergeordnete Rolle.

Entsprechend den hier durchgeführten Stichprobenuntersuchungen scheint die Raumbelastung der Anlagen in einem Bereich von etwa 2-13 g oTS/lxd keinen nennenswerten Einfluß auf die Mikroflorenzusammensetzung zu haben. Ebenso ist offensichtlich die Zusammensetzung der Flora unabhängig davon ob die Erwärmung des Reaktorinhaltes über eine exogene Wärmequelle (im Fall der Laboranlage) oder über die endogene Reaktionswärme (in den Praxisanlagen) erfolgt. Insgesamt zeigen die Ergebnisse, daß der beheizte Laborfermenter

durchaus als Modellanlage für aerob-thermophile Prozesse dienen kann, an der praxisrelevante biotechnologische Fragestellungen unter definierten Bedingungen untersucht werden können.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit wird der Einfluß der Temperatur auf die Abbauleistung der aeroben Abwasser- und Schlammbehandlung untersucht, im zweiten Teil wird die Zusammensetzung der thermophilen Mikroflora beschrieben. Beide Themenschwerpunkte wurden zunächst an Laborfermentern (Arbeitsvolumen 2-3 l) bearbeitet, die mit organisch hochbelastetem Abwasser aus der Backhefeproduktion oder kommunalem Klärschlamm beschickt wurden. Ergänzend dazu wurden mehrere Praxisanlagen zur aerob-thermophilen Schlammstabilisierung (System Fuchs) sowohl hinsichtlich der Abbauleistung als auch der beteiligten Mikroflora untersucht.

5.1. Abwassertechnologische Aspekte

Abbauversuche mit Abwasser aus der Hefeproduktion

Bei Abwasser aus der Hefeproduktion steigt die Mineralisierung mit dem Übergang von psychophilen zu hoch mesophilen Temperaturen (35-40°C) deutlich an: bei einer mittleren Raumbelastung von 8,7 g oTS/lxd und einer Retentionszeit von 1 d werden bei 17°C etwa 2,7 g oTS/lxd mineralisiert, bei 37°C steigt dieser Wert auf rund 4,6 g oTS/lxd. Bei weiterer Steigerung der Betriebstemperatur über 40°C hinaus fällt die Mineralisierung allerdings wieder drastisch ab; bei 60°C werden unter den angegebenen Belastungsbedingungen nur noch rund 3 g oTS/lxd mineralisiert. Der Grund für diesen Leistungsabfall liegt darin, daß Betain, das etwa 20% der organischen Substanz des Hefeabwassers ausmacht, bei thermophilen Temperaturen nicht abgebaut wird. Deshalb wird die lösliche organische Substanz des Hefeabwassers bei 60°C auch bei 2-tägiger Behandlung (Raumbelastung 4,3 g oTS/lxd) nur um etwa 50% reduziert, während die mesophile Behandlung zu einer rund 80%-igen Reduktion der löslichen oTS führt. Damit ist bei diesem Substrat nahezu die Grenze des biolo-

gischen Abbaus erreicht. Die Restbelastung des Hefeabwassers -hauptsächlich sehr schwer abbaubare Maillard-Produkte- kann auch bei langen Haltezeiten von 15-20 d kaum weiter reduziert werden.

Abgesehen davon, daß bestimmte organische Substanzen einem aeroben Abbau unter thermophilen Bedingungen offenbar überhaupt nicht zugänglich sind, ergaben unsere Untersuchungen noch einen weiteren Nachteil der thermophilen Abwasserreinigung: im Vergleich mit mesophilen Belebtschlämmen zeigen thermophile Belebtschlämme eindeutig schlechtere Sedimentationseigenschaften, da die in ihrer Formenvielfalt verarmte thermophile Mikroflora kaum Tendenz zur Bildung großer, rasch sedimentierender Flocken zeigt. Dies führt unter Umständen zu deutlichem Mehraufwand bei der Trennung von Reinwasser und Belebtschlamm.

Diesen Nachteilen einer thermophilen Abwasserbehandlung steht allerdings ein grundsätzlicher Vorteil gegenüber: auf Grund des niedrigeren Wachstumsertrages thermophiler Mikroorganismen zeigen thermophile Abwasserreinigungsverfahren eine um etwa 30-50% geringere Schlammproduktion als mesophile Verfahren. Entsprechend erbringen thermophile Verfahren eine höhere spezifische Mineralisierungsleistung, die sich in einem rund 60-80% höheren Mineralisierungskoeffizient "oTS mineralisiert" zu "oTS im Schlamm festgelegt" ausdrückt. Als weiterer Vorteil einer thermophilen Abwasserbehandlung wäre die sichere Entseuchung zu nennen, die bei verschiedenen Abwasserarten anzustreben ist.

Abbauversuche mit Klärschlamm

In den mit Primärschlamm betriebenen Reaktoren (Raumbelastung 10 g oTS/lxd; Retentionszeit 1 d) bewirkt die Temperaturerhöhung von 25°C auf 35-40°C eine Steigerung der Mineralisierung um rund 50% (von etwa 2 auf 3 g oTS/lxd). Ein weiteres Anheben der Betriebstemperatur über hoch mesophile Temperaturen hinaus läßt allenfalls noch geringe Leistungssteigerungen

mit einem Q_{10} -Wert von etwa 1,1 zu. Mit Sekundärschlamm als Substrat ist die leistungssteigernde Wirkung einer Temperaturerhöhung insgesamt geringer: gegenüber den bei 30°C betriebenen Reaktoren zeigen bei 60°C betriebene Reaktoren nur eine um etwa 20-25% höhere Mineralisierungsleistung. Sowohl Protein als auch Fette -die beiden wichtigsten Stoffklassen der organischen Substanz von Klärschlamm- werden bei thermophilen Temperaturen besser abgebaut als bei mesophilen Temperaturen. Allerdings liegen auch für das Substrat Klärschlamm Hinweise vor, daß nach thermophiler Behandlung Inhaltsstoffe zurückbleiben, die nur unter mesophilen Bedingungen weiter abgebaut werden können. So weist der Ablauf thermophiler Reaktoren deutlich höhere BSB_5 -Gehalte auf als der mesophil behandelte Schlamm. Dies bedingt ein höheres BSB_5 :CSB-Verhältnis, also einen schlechteren Stabilisierungsgrad thermophil behandelter Schlämme, was sich auch bei einigen Praxisanlagen bestätigte.

Bei abwassertechnologisch relevanten Schlammeigenschaften wie Entwässerungsverhalten und Trübwasserbelastung bringt eine thermophile Behandlung ebenfalls deutliche Nachteile mit sich.

Praxisanlagen zur aerob-thermophilen Schlammstabilisierung

Im Rahmen der Arbeit wurden 5 Praxisanlagen zur aerob-thermophilen Schlammstabilisierung (System Fuchs) untersucht. Die Anlagen werden bei Raumbelastungen zwischen 2 und 8 g oTS/lxd und einer Retentionszeit von 4,5-14 d betrieben. In der Regel werden in den Anlagen etwa 30-45% der organischen Substanz des Rohschlammes mineralisiert. Anlagen mit wesentlich niedrigerer (knapp 20%) als auch mit wesentlich höherer Mineralisierung (knapp 70%) stellen eher die Ausnahme dar. Die Mineralisierungsleistung der Anlagen pro Reaktorvolumen und Zeit liegt mit 0,5-2 g oTS/lxd wesentlich unter der in den Laboranlagen erzielten Mineralisierungsleistung von bis zu 5 g oTS/lxd

Resümee

Insgesamt zeigen die Abbauprobungen, daß thermophile Temperaturen über 35-45°C die Abbauleistung aerober Abwasser- und Schlammbehandlungsanlagen allenfalls noch unwesentlich zu steigern vermögen, in Einzelfällen sogar zu deutlichen Leistungseinbußen führen können. Eindeutige Vorteile thermophiler Verfahren liegen vielmehr in einem rascheren Aufschluß zellulären Materials, einer geringeren Überschußschlammproduktion, sowie einer Entseuchung seuchenhygienisch bedenklicher Substrate. Dem stehen allerdings deutliche Nachteile sowohl hinsichtlich einer eingeschränkten Abbaubarkeit spezifischer Inhaltsstoffe der Substrate als auch hinsichtlich der schlechteren Absetzbarkeit thermophiler Belebtschlämme gegenüber.

Erste Versuche im Labormaßstab zeigen, daß eine 2-stufig-thermophil/mesophile Schlammbehandlung -als Alternative zur derzeit in der Praxis üblichen Stufenfolge mesophil/thermophil- in der Lage ist, die Vorteile der Thermophilie unter weitgehender Beseitigung ihrer Nachteile auszuschöpfen.

5.2. Mikrobiologische Aspekte

Mikroflora einer bei 60°C betriebenen Laboranlage zur Behandlung von Abwasser aus der Hefeproduktion

Florenanalysen an einem mit Hefeabwasser beschickten Laborfermenter (Raumbelastung 17,4 g oTS/lxd; Retentionszeit 1 d) ergaben eine mikroskopisch bestimmte Gesamtkeimzahl von $1,4 \times 10^9$ /ml, die Keimzahl der physiologisch aktiven Mikroflora lag bei $1,1 \times 10^9$ /ml. $0,5 \times 10^9$ Keime/ml, also rund 45% der aktiven Flora, konnten auf festen Nährböden erfaßt werden. Über 99% dieser Flora wurden auf Grund physiologischer, biochemischer und genomischer Eigenschaften der thermophilen Art *Thermus ruber* zugeordnet.

Vertreter der Gattung *Bacillus* machten weniger als 1% der isolierten Flora aus; sie konnten den Arten *B.pallidus* und *B.stearothermophilus* zugeordnet werden.

Mikroflora einer bei 60°C betriebenen Laboranlage zur Behandlung von Klärschlamm

Die Florenanalyse eines mit Klärschlamm beschickten Laborfermenters (Raumbelastung 12,6 g oTS/lxd; Retentionszeit 2,5d) ergab eine mikroskopisch bestimmte Gesamtkeimzahl von $15,5 \times 10^9$ /ml. $8,2 \times 10^9$ Keime/ml waren physiologisch aktiv. Auf festen Nährböden konnten rund $5,0 \times 10^9$ Keime/ml (60% der aktiven Flora) erfaßt werden.

Den Hauptteil dieser Flora stellte mit einer Lebendkeimzahl von $2,8 \times 10^8$ /ml eine Gruppe von aeroben Sporenbildnern (Isolate S 6001, S 6025, S 6026), die auf Grund ihrer physiologischen, biochemischen und genomischen Eigenschaften keiner gültig beschriebenen Bacillus-Art zugeordnet werden konnten und daher in einer neu zu beschreibenden Art "B.thermocloacae" zusammengefaßt wurden.

Nächsthäufiger Vertreter der thermophilen Klärschlammflora war mit einer Lebendkeimzahl von $1,8 \times 10^9$ /ml ein coryneformes Isolat (S 6022) mit einem G+C- Gehalt der DNS von 66 mol% und einer bisher noch nie beschriebenen Zellwand mit β -Alanin als Interpeptidbrücke. Die bisher nicht beschriebene Merkmalskombination dieses Stammes war Anlaß, Isolat S 6022 als zur Zeit einzigen Vertreter einer neu zu beschreibenden Art und Gattung "Sphaerobacter thermophilus" innerhalb der coryneformen Bakterien anzusehen.

Als dritthäufigster Florenvertreter trat mit einer Lebendkeimzahl von $0,4 \times 10^9$ /ml ein Stamm der Art B.sphaericus auf (Isolat S 6042). Die Artzuordnung dieses Isolats erfolgte auf Grund seiner Lys-Asp-haltigen Zellwand und der DNS/DNS-Homologie zu B.sphaericus.

Mikroflora von Praxisanlagen zur aerob-thermophilen Schlammstabilisierung

Durch Immunfluoreszenz wurde mit Hilfe spezifischer Antiseren gegen die Isolate aus dem mit Klärschlamm betriebenen Laborfermenter der Anteil dieser Isolate an der Mikroflora von

Praxisanlagen bestimmt. Es zeigte sich, daß die Mikroflora der Laboranlage bis zu 70% der physiologisch aktiven Mikroflora der Praxisanlagen repräsentiert, wobei "B.thermoclodae" am weitesten verbreitet ist und in der Regel auch am häufigsten auftritt. "Sphaerobacter thermophilus", B.sphaericus, B.pallidus und B.stearothermophilus kommen zwar zum Teil ebenfalls in erheblichen Keimzahlen über 10^8 /ml vor, sie spielen jedoch insgesamt eher eine untergeordnete Rolle.

Resümee

Wie die mikrobiologischen Untersuchungen insgesamt zeigen, zeichnet sich die thermophile Mikroflora nicht in allen Fällen durch die Dominanz von Vertretern der Gattung Bacillus aus. So setzt sich die Mikroflora des thermophil behandelten Abwassers aus der Hefeproduktion fast ausschließlich aus Vertretern der Gattung Thermus zusammen. Selbst in den Klärschlammstabilisierungsanlagen -sowohl im Praxis- als auch im Laborbetrieb- stellen Bacillen nicht die alleinigen Vertreter der Mikroflora dar. Auch coryneforme Mikroorganismen spielen offensichtlich im Temperaturbereich um 60°C eine große Rolle. Die isolierten Bacillusstämmen können nur zu einem kleinen Teil der bislang als für dieses Biotop typisch angesehenen Art B.stearothermophilus zugeordnet werden. Der größere Teil der Isolate kann der Art B.sphaericus zugeordnet werden, bzw. muß als Vertreter neuer Arten (B.pallidus,"B.thermoclodae") beschrieben werden.

Im einzelnen sind noch erhebliche Bestimmungsarbeiten notwendig, um die mikrobiologischen Grundlagen der aerob-thermophilen Schlammstabilisierung im Detail zu verstehen. Die Keimzahlbestimmung mit Hilfe der Immunfluoreszenz scheint eine geeignete Methode zu sein, um -aufbauend auf der Florenanalyse in Modellanlagen- die Mikroflora von Praxisanlagen charakterisieren zu können.

6. LITERATURVERZEICHNIS

Bau, K. (1985).

Einfluß des Feststoffgehaltes auf die aerob-thermophile Stabilisierung. In: Schriftenreihe Siedlungswasserwirtschaft 7, 95-111, Bochum

Bonjour, F., Aragno, M. (1984).

Bacillus tusciae, a new species of thermophilic, facultatively chemolithoautotrophic hydrogen oxidizing sporeformer from geothermal area. Arch. Microbiol. 139, 397-401

Breitenbücher, K. (1982).

Aerob-thermophile Stabilisierung von Abwasserschlämmen. Korrespondenz Abwasser 29, 203-207

Breitenbücher, K. (1983).

Aerob-thermophile Stabilisierung von Abwasserschlämmen. Hohenheimer Arbeiten 125, Stuttgart

Bundesminister des Inneren. (1982).

Klärschlammverordnung-AbfKlärV vom 25. Juni 1982. Bundesgesetzblatt Teil I, 734-738

Claus, D., Berkeley, R.C.W. (1986).

Genus *Bacillus* Cohn 1872. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2: The Gram-positives others than Actinomycetes. (Sneath, P.H., ed.). Williams and Wilkins, Baltimore

Collins, M.D., Jones, D. (1981).

Distribution of Isoprenoid Quinone Structural Types in Bacteria and Their Taxonomic Implications. Microbiol. Rev. 45, 316-354

- Conway de Macario, E., Macario, A.J.L. (1985).
Immunologic Probes for Identification of Methanogenic Bacteria in Anaerobic Digestors. In: Proceedings of the Fourth International Symposium on Anaerobic Digestion, Guangzhou, China, 11.-15.11.1985
- Cooney, C.L., Wang, D.I.C., Mateles, R.I. (1969).
Measurement of Heat Evolution and Correlation with Oxygen Consumption during Microbial Growth. Biotechnology and Bioengineering 11, 269-281
- Coultate, T.P., Sundaram, T.K. (1975).
Energetics of *Bacillus stearothermophilus* Growth: Molar Growth Yield and Temperature Effects on Growth Efficiency. J. Bacteriol. 121, 55-64
- Darland, M.D., Brock, T.D. (1971).
Bacillus acidocaldarius sp. nov., an Acidophilic Thermophilic Spore-forming Bacteria. J. Gen. Microbiol. 67, 9-15
- De Ley, J., Cottoir, H., Reynarts, A. (1970).
The Quantitative Measurement of DNA Hybridization from Renaturation Rates. Eur. J. Biochem. 12, 133-142
- Deutsche Einheitsverfahren zur Wasseruntersuchung. (1985).
Verlag Chemie, Weinheim
- Fahmy, F., Flossdorf, J., Claus, D. (1985).
The DNA Base Composition of the Type Strains of the Genus *Bacillus*. System. Appl. Microbiol. 6, 60-65
- Frank, H., Vujtonvik-Ockenga, N., Rettenmeier, A. (1983).
Amino acid determination by capillary gas chromatography on Chirasil-Val. J. Chromatography 279, 507-514
- Friedmann, A.A., Schroeder, E.D. (1972).
Temperature effects on growth and yield of activated sludge. JWPCF 44, 1433-1442

Fuchs (1970).

Flüssigkompostierung. Umschau in Wissenschaft und Technik, Heft 11, 354

Fuchs, H., Fuchs, L., Fuchs, W. (1980).

Die exotherme, aerob-thermophile Schlammstabilisation. UMWELT 3, 314-316

Fuchs (1983).

Kommunale Kläranlage mit moderner Konzeption. wlb."wasser, luft und betrieb 27, 24-25

Fuchs, L. (1984).

Die aerob-thermophile Stabilisation von Klärschlamm. awt abwassertechnik 35, 5-6

Gilles, J. (1983).

Stand der öffentlichen Abwasserbeseitigung - Abwasserinvestitionen. Korrespondenz Abwasser 30, 692-69

Hallermeyer, R. (1976).

Eine Schnellmethode zur Bestimmung des Fettgehaltes in Lebensmitteln. Deutsche Lebensmittel-Rundschau 10, 356-359

Harrigan, W.F., Mc Cance, M.E. (1966).

Laboratory methods in microbiology. Academic Press, London

Hartmann; R.B., Smith, D.G., Benett, E.R., Linstedt, K.D. (1979)

Sludge stabilization through aerobic digestion. JWPCF 51, 2353-2365

Hensel, R., Demharter, W., Kandler, O., Kroppenstedt, R.M., Stackebrand, E. (1986).

Chemotaxonomic and Molecular-Genetic Studies on the Genus Thermus: Evidence for a Phylogenetic Relationship of Thermus aquaticus and Thermus ruber to the Genus Deinococcus. Int. J. Syst. Bacteriol. 36, in press

- Huss, V.A.R., Festl, H., Schleifer, K.H. (1983).
Studies on the spectrophotometric determination of
DNA hybridization from renaturation rates.
System. Appl. Microbiol. 4, 184-192
- Imhoff, K., Imhoff, K.R. (1979).
Taschenbuch der Stadtentwässerung, R. Oldenburg
Verlag, München
- Jewell, W.J., Kabrick, R.M. (1980).
Autoheated aerobic thermophilic digestion with
aeration. JWPCF 52, 512-523
- Kandler, O. (1976).
Studie über Stand und Möglichkeiten der Abwasserrei-
nigung mit Hilfe thermophiler Mikroorganismen. BMFT-
Auftragsnummer: 01 VY 016-AA/NT/BCT 0127
- Kaneda, T. (1977).
Fatty Acids of the Genus Bacillus: an Example of
Branched-Chain Preference. Bacteriol. Rev. 41, 391-418
- Kiese, S., Scheffler, U., Pilepp, E. (1986).
Hochlastverfahren zur innerbetrieblichen biologischen
Abwasserreinigung. Chemie-Technik 15, 24-30
- Kretschmer, W. (1967).
Eine modifizierte Methode der Staphylococcen-Agglu-
tination. Zbl. Bakt. Parasit. Infekt. Hyg. I. Abt.
Origin. 204, 325-334
- Kroppenstedt, R.M. (1982).
Separation of bacterial menaquinones by HPLC using
reverse phase (RP 18) and a silver loaded ion ex-
changer as stationary phases. J. Liq. Chromat. 5,
2359-2367

Kroppenstedt, R.M. (1985).

Fatty acids and menaquinone analysis of Actinomycetes and related organisms. In: Chemical methods in bacterial systematics 20. Goodfellow, M. and Minnikin, D.E., (eds.), SAB Technical Series, Acad. Press

Krych, V.K., Johnson, J.L., Yousten, A.A. (1970).

Deoxyribonucleic Acid Homologies Among Strains of *Bacillus sphaericus*. Int. J. Syst. Bacteriol. 30, 477-484

Loginova, L.G., Egorova, L.A., Golovacheva, R.S., Seregina, S.M. (1984).

Thermus ruber sp. nov., nom. rev. Int. J. Syst. Bacteriol. 34, 498-499

Loll, U. (1974).

Stabilisierung hochkonzentrierter organischer Abwässer und Abwasserschlämme durch aerob-thermophile Abbauprozesse. Dissertation der TU Darmstadt

Loll, U. (1984).

Stand der Technik bei der aerob-thermophilen Klärschlammstabilisierung. Korrespondenz Abwasser 31, 934-939

Loll, U. (1984).

Technik der aeroben Schlammstabilisierung. In: Verfahrenstechnik der Klärschlammverwertung. VDI-Tagung in Baden-Baden, 25./26.10.1984

Macario, A.J.L., Conway de Macario, E. (1985).

Antibodies for methanogenic biotechnology. Trends in Biotechnology 3, 204-208

Marmur, J. (1961).

A Procedure for the Isolation of DNA from Microorganisms. J. Mol. Biol. 3, 208-218

Marmur, J., Doty, P. (1962).

Determination of the base composition of deoxyribonucleic acid from its thermal denaturation temperature. J. Molec. Biol. 5, 109-118

- Matsch, L.C., Drnevich, R.F. (1977).
Autothermal Aerobic Digestion. JWPCF 49, 296-310
- Möller, U., Schenkel, W. (1980).
Wohin mit den Schlämmen? Korrespondenz Abwasser 27, 77-84
- Müller, E. (1980).
Untersuchungen zum anaeroben Betainabbau. Diplomarbeit
der Math.-Naturw. Fakultät der Universität Göttingen
- Müller-Neuhaus, G. (1971).
Untersuchungen über die getrennte Schlammstabilisierung und Folgerungen für die Praxis. In: Berichte aus dem Institut für Wassergütwirtschaft und Gesundheitsingenieurwesen der TU München
- Müller-Neuhaus, G. (1971).
Die getrennte aerobe Schlammstabilisierung.
gwf-wasser-/abwasser 112, 392-395
- Niederwieser, A. (1972).
Thin-Layer Chromatographie of Aminoacids and Derivatives. In: Methods in Enzymologie 25, Hirs, S.H.W., Timasheff, S.N. (eds.), Academic Press, New York
- Ottow, J.C.G. (1974).
Detection of Hippurate Hydrolase among Bacillus Species by Thin Layer Chromatographie and other Methods. J. appl. Bacteriol. 37, 15-30
- Ottow, J.C.G., Förster, W., Rüprich, W., Breitenbücher, K. (1984).
Mikroorganismen der exotherm-aeroben Schlammstabilisierung. Landwirtsch. Forschung 37, 268-276
- Pöpel, F. (1971).
Die biologische Reinigung hochkonzentrierter Industrieabwässer durch Umwälzbelüftung. Umweltschutz-Städtereinigung

Pöpel, F. (1979).

Aufbau, Wirkungsweise und Förderleistung von Umwälzbelüftern. Landtechn. Forschung 18, Heft 5

Pöpel, F. (1979).

Selbsterwärmung bei der aeroben Reinigung hochkonzentrierter Substrate mit Hilfe von Umwälzbelüftern. Landtechn. Forschung 18 Heft 5

Pöpel, F., Ohnmacht, Ch. (1972).

Thermophilic Bacterial Oxidation of Highly Concentrated Substrates. Water Research 6, 807-815

Rhuland, L.E., Work, E., Denman, R.F., Hoare, S. (1955).

The behavior of the isomers of diaminopimelic acid on paper chromatograms. J. Amer. Chem. Soc. 77, 4844-4846

Rincke, G. (1971).

Auftreten und Einfluß thermophiler Prozesse bei der aeroben Stabilisation. Gewässerschutz-Wasser-Abwasser 6 25-35

Rüprich, W. (1979).

Einsatz des Umwälzbelüfters für die Flüssigmistaufbereitung. Landtechn. Forschung 18, Heft 5

Rüprich, W., Strauch, D. (1984).

Technologische und hygienische Aspekte der aerob-thermophilen Schlammstabilisierung. Korrespondenz Abwasser 31, 946-952

Ryter, A., Kellenberger, E., Birch-Andersen, A., Maaloe, O. (1958).

Etude au microscope electronique de plasmas contenant de l'acide desoxyribonucleic. Les nucleoides des bacteries en croissance active. Z. Naturforschung 13, 597-605

Sarfert, F., Peter, A. (1984).

Thermische Schlammkonditionierung im Klärwerk Berlin-Marienfelde. In: Verfahrenstechnik der Klärschlammverwertung. VDI-Tagung in Baden-Baden, 25./26.10.1984

Scheffler, U., Kiese, S., Pilepp, E. (1982).

Aerob-thermophile Reinigung organisch hochbelasteter Abwässer. wlb"wasser, luft und betrieb" Heft 10, 32-36

Schenk, A., Aragno, M. (1979).

Bacillus schlegelii, a New Species of Thermophilic, Facultatively Chemolithoautotrophic Bacterium Oxidizing Molecular Hydrogen. J. Gen. Microbiol. 115, 333-341

Schleifer, K.H., Kandler, O. (1973).

Peptidoglycan Types of Bacterial Cell Walls and their Taxonomic Implications. Bacteriol. Rev. 36, 407-477

Scholz, T., Demharter, W., Hensel, R., Kandler, O. (1986).

Bacillus pallidus sp. nov. A New Thermophilic Species from Sewage. J. System. Appl. Microbiol. in press

Smith, N.R., Gordon, R.E., Clark, J.B. (1952).

Aerobic spore forming bacteria. Agriculture monograph no. 16. U.S. Department of agriculture, Washington, D.C.

Sonnleitner, B. (1983).

Biotechnology of Thermophilic Bacteria -Growth, Products and Application. In: Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology 28, 69-138. Fiechter, A. (ed.)

Sonnleitner, B., Fiechter, A. (1983).

Bacterial Diversity in Thermophilic Aerobic Sewage Sludge, I. Active Biomass and its Fluctuations. Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 18, 47-51

- Sonnleitner, B., Fiechter, A. (1983):
Bacterial Diversity in Thermophilic Aerobic Sewage
Sludge, II. Types of Organisms and their Capacities.
Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 18, 174-180
- Sonnleitner; B., Fiechter, A. (1985).
Microbial Studies in Thermophilic Aerobic Sludge Treat-
ment. Conservation and Recycling 8, 303-313
- Spurr, A.R. (1969).
A low-viscosity epoxy resin embedding medium for
electron microscopy. J. Ultrastruct. 26, 31-43
- Steiner, A. (1983).
Wirkungsgrad der Methanproduktion aus landwirtschaft-
lichen Abfällen. Dissertation der LMU München
- Stephan, S., Ehret, M., Eckmeier, T., Hensel, R., Kandler, O.
(1983).
Zur Taxonomie der an der thermophilen aeroben Abwas-
serklärung und Schlammstabilisierung beteiligten
Bacillenflora. Poster bei der 39. Tagung der DGHM
in Bonn, 3.-6.10.83
- Strauch, D. (1980).
Mikrobiologische Untersuchungen zur Hygienisierung
von Klärschlamm. 7. Mitteilung: Weitere Untersuchungen
an einem Verfahren zur aerob-thermophilen Schlamm-
stabilisierung. gwf-wasser/abwasser 121, 552-555
- Strauch, D., Müller, W., Best, E. (1970).
Teilergebnisse der hygienisch-bakteriologischen
Prüfung des Systems der Umwälzbelüftung. Landtechn.
Forschung 18, Heft 5
- Strauch, D., Wassen, H. (1976).
Hygienische Untersuchungen bei der Umwälzbelüftung
von kommunalem Klärschlamm. gwf wasser/abwasser 117,
129-135

- Sukatsch, D.A., Johnson, M.J. (1972).
Bacterial Cell Production from Hexadecane at High
Temperatures. Appl. Microbiol. 23, 543-546
- Surucu, G.A., Chian, E.S.K., Engelbrecht, R.S. (1976).
Aerobic Thermophilic Treatment of High Strength
Wastewaters. JWPCF 48, 669-679
- Suzuki, Y., Kishigami, T., Inoue, K., Mizoguchi, Y., Eto, N.,
Takagi, M., Abe, S. (1978).
Bacillus thermoglucosidasius sp. nov., a new species
of obligately thermophilic bacilli. System. Appl.
Microbiol. 4, 487-495
- Temper, U. (1983).
Methangärung von Klärschlamm und anderen komplexen
Substraten bei mesophilen und thermophilen Tempera-
turen. Dissertation der LMU München
- von Steldern, D., Ottow, J.C.G., Loll, U. (1974).
Thermophile aerobe Sporenbildner bei der biologischen
Reinigung hochkonzentrierter Abwässer. Zeitschrift
f. Allg. Mikrobiol. 14, 229-236
- Wöhrl, R. (1982).
Zur Mikroflora aerob-thermophiler Schlammbehandlung.
Diplomarbeit am Inst. für Allg. Botanik der LMU München
- Wolf, P., Nordmann, W. (1977).
Eine Feldmethode für die Messung des CSB von Abwasser.
Korrespondenz Abwasser 77, 277-279
- Zillig, W., Stetter, K.O., Wunderl, S., Schulz, W., Pries, H.,
Scholz, I. (1980).
The *Sulfolobus*-"*Caldariella*" group: Taxonomy on the
basis of the structure of DNA dependent RNA poly-
merases. Arch. Microbiol. 36, 926-935

Zimmermann, R., Iturriaga R., Becker-Birck, J. (1978).

Simultaneous Determination of the Total Number of
Aquatic Bacteria and the Number Therof Involved
in Respiration. Appl. Environ. Microbiol. 36, 926-935

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Allgemeine Botanik der Ludwig-Maximilians-Universität München unter Leitung von Prof. Dr. O. Kandler angefertigt. Die Untersuchungen wurden gefördert vom Bundesministerium für Forschung und Technologie (Förderungsnummer PTB 8163).

Herrn Prof. Dr. O. Kandler danke ich für die Betreuung der Arbeit, für viele wertvolle Anregungen, nützliche Gedanken und kritische Diskussionen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. rer.nat.habil. R. Hensel für zahllose hilfreiche Ideen und Hinweise sowie für die vielen praktischen Hilfestellungen.

Herrn Dr. N. Weiß (DSM, München) gilt mein herzlicher Dank für viele praktische Hilfen und Erfahrungen bei der Zellwandanalyse.

Herrn Prof. Dr. F. Fiedler (Institut für Genetik und Mikrobiologie der LMU München) danke ich für seine Unterstützung bei der Zuckeranalyse.

Herrn Dr. R.M. Kroppenstedt (DSM, Darmstadt) danke ich für die Analyse der Fettsäuren und Isoprenoid-Chinone.

Herrn Prof. Dr. W. Schäfer (MPI für Biochemie, Martinsried) gilt mein Dank für die Konfigurationsbestimmung von Aminosäuren.

Herrn Dr. M. Hornberger (MPI für Biochemie, Martinsried) danke ich für die Unterstützung bei der Immunisierung von Kaninchen.

Herrn M. Schumacher (Institut für Pharmazeutische Chemie, LMU München) danke ich für die Anfertigung der β -Alanin-Massenspektren.

Herrn Dr. R. Hilpert, Herrn Dr. U. Temper und Herrn Dr. A. Steiner gilt mein Dank für viele kollegiale Gespräche und Hilfen bei einigen Analysen.

Schließlich möchte ich allen Mitarbeitern am Botanischen Institut, die zu dieser Arbeit beigetragen haben, herzlich danken, besonders Frau H. Renz (immunologische Analysen), Frl. C. Stöckel (Elektronenmikroskopie) und last, but not least, Frl. Silvia Laumann, ohne die die umfangreiche Analytik dieser Arbeit kaum zu bewältigen gewesen wäre.

Lizzy, vielen Dank fürs Tippen!

LEBENS LAUF

Persönliche Daten

Name	Wilhelm Demharter
Geburtsdatum	23. April 1954
Geburtsort	Augsburg
Eltern	Walburga und Johann Demharter
Staatsangehörigkeit	deutsch
Familienstand	verheiratet

Schul Ausbildung

1960 - 1964	Eichendorff-Volksschule in Augsburg-Haunstetten
1964 - 1973	Holbein-Gymnasium in Augsburg
Juni 1973	Abitur (Neusprachlicher Zweig)

Wehrdienst

1973 - 1974	Fm.Btl. 220 in Donauwörth
-------------	---------------------------

Studium

1974 - 1981	Studium der Biologie an der Ludwig-Maximilians- Universität München
April 1981	Diplom

Promotion

Mai 1981 - November 1985	Promotion am Lehrstuhl für All- gemeine Botanik der LMU München unter Leitung von Prof. Dr. O. Kandler Während dieser Zeit Anstellung als studentische Hilfskraft und wissenschaftlicher Angestellter
--------------------------	---

Berufstätigkeit

seit Dezember 1985	Wissenschaftlicher Angestellter am Lehrstuhl für Wassergütwirtschaft und Gesundheitsingenieurwesen der TU München
--------------------	--

